

CODEX ALIMENTARIUS

NORMAS INTERNACIONALES DE LOS ALIMENTOS



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Organización
Mundial de la Salud

E-mail: codex@fao.org - www.codexalimentarius.org

**DIRECTRICES PARA EL DISEÑO Y LA IMPLEMENTACIÓN DE PROGRAMAS NACIONALES
REGLAMENTARIOS DE ASEGURAMIENTO DE INOCUIDAD ALIMENTARIA RELACIONADOS
CON EL USO DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS EN LOS ANIMALES DESTINADOS A
LA PRODUCCIÓN DE ALIMENTOS**

CAC/GL 71-2009

Adoptadas en 2009. Revisadas en 2012, 2014

ÍNDICE

- 1. INTRODUCCIÓN**
- 2. ÁMBITO DE APLICACIÓN**
- 3. PRINCIPIOS GENERALES**
- 4. ENFOQUE BASADO EN EL RIESGO**
- 5. DEFINICIONES (PARA LOS EFECTOS DE ESTAS DIRECTRICES)**
- 6. MARCO REGLAMENTARIO**
 - 6.1 Funciones
 - 6.2 Aprobación por las autoridades competentes
 - 6.3 Información sobre medicamentos veterinarios
 - 6.4 Venta y uso
 - 6.5 Responsabilidades de los empresarios del sector alimentario (orientación sobre mejores prácticas)
- 7. PROGRAMAS DE VERIFICACIÓN**
 - 7.1 Propósito
 - 7.2 Principios generales de diseño
 - 7.3 Diseño del sistema y del programa de verificación dirigida
 - 7.4 Elaboración de perfil de riesgos
- 8. ELECCIÓN DEL PROGRAMA DE VERIFICACIÓN**
 - 8.1 Programas de verificación de sistemas
 - 8.2 Programas de verificación dirigidos al riesgo
 - 8.3 Estudios
 - 8.4 Revisión
- 9. TOMA DE MUESTRAS**
 - 9.1 Principios generales
 - 9.2 Rastreabilidad / rastreo de productos
- 10. CONSIDERACIONES ESTADÍSTICAS**
 - 10.1 Generalidades
 - 10.2 Retención de las remesas durante la realización de los análisis de laboratorio
 - 10.3 Interpretación de los resultados
 - 10.4 Programas de evaluación en los puertos de entrada (requisitos específicos)
- 11. MEDIDAS REGLAMENTARIAS**
 - 11.1 Investigación de los casos fuera de cumplimiento
 - 11.2 Medidas en caso de incumplimiento: Conducta
 - 11.3 Medidas en caso de incumplimiento: Producto
 - 11.4 Medidas correctivas en caso de incumplimiento
- 12. INTERACCIÓN ENTRE LOS PROGRAMAS DE CONTROL DE DOS AUTORIDADES COMPETENTES**
MÉTODOS DE ANÁLISIS PARA EL CONTROL DE RESIDUOS
Consideraciones generales sobre los métodos de análisis para el control de residuos
- 13. INTRODUCCIÓN**

14. INTEGRACIÓN DE MÉTODOS DE ANÁLISIS PARA EL CONTROL DE RESIDUOS**15. CONSIDERACIONES PARA LA SELECCIÓN Y LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE ANÁLISIS**

- 15.1 Identificación de requisitos relativos a los métodos
- 15.2 Implementación de otras directrices de la Comisión del Codex Alimentarius
- 15.3 Validación de métodos e idoneidad para el uso previsto
- 15.4 Validación realizada por un solo laboratorio – El enfoque por criterios

Características de los métodos de análisis de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos**16. INTRODUCCIÓN****17. CONSIDERACIONES RELATIVAS A LA ELABORACIÓN DE MÉTODOS****18. CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES ANALÍTICAS**

- 18.1 Características funcionales de los métodos de selección
- 18.2 Características funcionales de los métodos cuantitativos
- 18.3 Características funcionales de los métodos de confirmación
- 18.4 Características funcionales generales para los métodos a utilizarse en un programa de control reglamentario

19. CONSIDERACIONES RELATIVAS A LA ELABORACIÓN Y LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS PARA EL CONTROL DE RESIDUOS

- 19.1 Selección del material de ensayo adecuado para la validación
- 19.2 Incertidumbre de la medición
- 19.3 Uso de patrones internos
- 19.4 Consideraciones ambientales
- 19.5 Elección del modelo de validación
- 19.6 Control de calidad y garantía de calidad

Apéndice A. Estrategias de muestreo

- A1. Muestreo insesgado
 - A1.1 Propósito
 - A1.2 Consideraciones estadísticas sobre el tamaño de la población de muestreo
 - A1.3 Informe del nivel de confianza del muestreo
- A2. Muestreo directo o dirigido
 - A2.1 Propósito

Apéndice B. Muestreo de productos

- B1. Ámbito de aplicación
- B2. Definiciones
- B3. Procedimientos de muestreo
- B4. Instrucciones específicas para la preparación de muestras para la miel
- B5. Preocupaciones estadísticas
 - B5.1 Muestreo aleatorio estratificado
 - B5.2 Muestreo sistemático
 - B5.3 Muestreo sesgado o estimado del caso más desfavorable
- B6. Preparación de muestras de laboratorio

B.7 Envío / transporte de muestras de laboratorio

B.8 Interpretación de resultados en el laboratorio

B.9 Registros del muestreo

Orientación sobre el tipo y la cantidad de muestra para distintos productos

Tabla A: Productos de carnes y aves de corral

Tabla B: Leche, huevos y productos lácteos

Tabla C: Productos de acuicultura

Apéndice C. Anteproyecto de directrices sobre las características funcionales para el análisis de residuos múltiples (MRMS) para medicamentos veterinarios

C1. Ámbito de aplicación

C2. Definiciones

C3. Resumen de los parámetros funcionales a ser caracterizados y definidos por los métodos analíticos de residuos múltiples

C4. Características funcionales para los MRMs

C5. Características funcionales de los MRMs para los análisis de screening /Tamiz

C6. Características funcionales de los MRMs para los análisis cuantitativos

C7. Características funcionales de los MRMS para los métodos de confirmación

C8. Validación de los MRM totalmente caracterizados

1. INTRODUCCIÓN

Los sistemas modernos de producción de alimentos deberían diseñarse y gestionarse para asegurar que la exposición a medicamentos veterinarios de los animales destinados a la producción de alimentos no represente un riesgo para la salud humana.

Las entidades comerciales involucradas en la producción y comercialización de alimentos tienen la responsabilidad principal de asegurar la inocuidad de los alimentos. La función de las autoridades competentes es controlar el uso de los medicamentos veterinarios y de verificar que se estén aplicando las prácticas adecuadas y que haya medidas eficaces establecidas dentro del sistema de distribución de medicamentos veterinarios y de producción de alimentos, a fin de conferir una protección eficaz para la salud del consumidor y asegurar las prácticas equitativas en el comercio de los alimentos, de forma coherente con los objetivos del Codex Alimentarius. Todas las partes también son responsables de proporcionar información y educación al consumidor para facilitar las buenas elecciones de productos alimentarios de origen animal.

La aplicación de un programa basado en el riesgo para todos los tipos de alimentos debería proporcionar los controles y la verificación que sean coherentes con el riesgo que el tipo de alimento en cuestión pueda representar para los consumidores. La aplicación de un enfoque basado en el riesgo a lo largo de todos los grupos de alimentos y clases de peligros debería habilitar una aplicación más enfocada de los recursos en aquellas áreas que tienen las mayores probabilidades de generar mejoras reales en la protección de la salud humana.

Los perfiles de riesgos para los distintos peligros pueden variar según el país, la región, la especie y/o el sistema de producción. La aplicación de un programa de aseguramiento de control y verificación basado en el riesgo, debería proporcionar las bases necesarias para que los países exportadores certifiquen la inocuidad de los alimentos exportados, y para que los países importadores tengan la confianza de aceptar dichas remesas.

Se reconoce que los países en desarrollo, en particular, podrían necesitar un período de transición y/o asistencia técnica respecto a la implementación total de estas Directrices.

2. ÁMBITO DE APLICACIÓN

El propósito de esta guía es proporcionar los principios y orientaciones generales para los gobiernos sobre el diseño y la implementación de programas de aseguramiento de inocuidad alimentaria, tanto nacionales como los relacionados con fines comerciales, para residuos de medicamentos veterinarios. Los anexos actuales y futuros de esta guía podrían proporcionar una mejora adicional a la orientación sobre cuestiones que podrían ser relevantes a los programas de control y verificación para los productos de ciertas especies. No obstante, estos anexos deberían leerse junto con los principios descritos en esta guía.

3. PRINCIPIOS GENERALES

Los programas para el control de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos deberían:

- i. Estar basados en el riesgo utilizando perfiles de riesgos realistas, evaluados como riesgos con probabilidades razonables de estar relacionados con alimentos derivados de sistemas de producción relevantes;
- ii. estar centrados en la prevención basados en los perfiles de riesgos realistas relacionados con el uso probable o comprobado de medicamentos veterinarios aprobados, no aprobados y prohibidos en el sistema de producción;
- iii. incluir medidas reglamentarias proporcionales al riesgo relativo para la salud humana relacionado con estos peligros frente a otros peligros relacionados con los alimentos;
- iv. asegurar que todos los participantes en el sistema de producción, comercialización y procesamiento de los animales y/o de los productos alimenticios derivados de ellos, sean considerados responsables de asegurar que los productos animales que no sean inocuos no sean vendidos como resultado de sus acciones o falta de acciones;
- v. reconocer que los controles y las prácticas previas a la cosecha son los medios principales para asegurar la inocuidad de los alimentos;
- vi. reconocer que la función principal de las auditorías y de los programas de muestreo es verificar la implementación y la eficacia de los controles y prácticas previas a la cosecha;

- vii. concentrarse en aseguramientos basados en los sistemas y las poblaciones; y
- viii. ser rentables y tener el apoyo de las partes interesadas.

Debería reconocerse que los medicamentos veterinarios son regulados en muchos países por una variedad de razones, tales como la sanidad animal, el bienestar de los animales y la protección del medio ambiente. Donde estos usos y las normas afines no competan al mandato de la Comisión del Codex Alimentarius, deberían estar claramente identificados y justificados donde, por motivos de eficacia, formen parte del programa de control de residuos de las autoridades competentes.

Los procedimientos de muestreo recomendados por la Comisión del Codex Alimentarius para residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos están exentos de los procedimientos generales de muestreo de productos alimenticios, elaborados por el *Comité del Codex sobre Métodos de Análisis y Toma de Muestras*. Por consiguiente, estas directrices incluyen procedimientos de muestreo pertinentes al programa de control en su totalidad.

La inocuidad de los alimentos se logra mediante la implementación de las respectivas reglas aplicadas desde la producción primaria o la importación hasta la venta al por menor o la exportación y requiere la intervención de todos los participantes. Las autoridades competentes deberían verificar la implementación correcta de los programas y, cuando sea necesario, si se ha tomado acción.

La fiabilidad de los resultados de las pruebas de laboratorio es importante para la toma de decisiones de las autoridades competentes. Por lo tanto, los laboratorios oficiales deberían utilizar métodos validados como idóneos para su uso previsto y trabajar bajo principios de gestión de calidad internacionalmente aceptados (p. ej., ISO 17025).

Un programa de control diseñado e implementado conforme a estas directrices proporciona reafirmación para que los países importadores acepten las remesas certificadas como inocuas por el país exportador.

4. ENFOQUE BASADO EN EL RIESGO

Un enfoque basado en el riesgo aplicado en toda la cadena de producción y en todos los grupos de alimentos y posibles peligros permitirá a las autoridades competentes concentrar la aplicación de recursos en las áreas de mayor riesgo que tienen más probabilidades de influir en la protección de la salud del consumidor.

La aplicación continua de las buenas prácticas y el control regular contribuyen más considerablemente a la inocuidad de los alimentos que las pruebas del producto final.

Los residuos pueden causar un efecto perjudicial en los consumidores de varias maneras, como por ejemplo:

- (a) efectos adversos toxicológicos crónicos;
- (b) efectos farmacológicos agudos en los consumidores y en la microflora del tubo digestivo de los consumidores;
- (c) reacciones alérgicas.

Podrían justificarse distintos tipos de controles y programas de vigilancia donde la evaluación de riesgos identifique a uno o más de estos distintos criterios de valoración como importantes para la salud humana. Las detecciones de residuos fuera de cumplimiento (p. ej., los residuos que sobrepasan los LMR correspondientes) justifican el seguimiento reglamentario.

Los animales y/o sistemas de producción pueden ser expuestos a una variedad de medicamentos veterinarios y otras sustancias químicas que, como resultado, podrían estar presentes en los productos derivados de ellos. Su importancia para la protección de la salud del consumidor, sin embargo, varía con el tipo y la fuente de origen.

Es fundamental entender las circunstancias requeridas para que cada medicamento veterinario que entre al sistema presente de hecho un riesgo al consumidor de productos derivados de animales, junto con una estimación de la probabilidad relativa de que esto ocurra, para poder determinar los controles y los programas de verificación adecuados que deberían incluirse en el diseño de los programas nacionales de control y verificación de residuos.

La aplicación de un programa de control y verificación basado en el riesgo, debería proporcionar las bases necesarias para que los países exportadores certifiquen, cuando se requiera, la inocuidad de los alimentos exportados, y para que los países importadores, sujetos a cualquier evaluación adicional que consideren necesaria, acepten dichas remesas.

Se deberían aplicar los mismos principios a los programas de aseguramiento para exportaciones como los que se aplican al diseño e implementación de los programas nacionales de aseguramiento.

5. DEFINICIONES (PARA LOS EFECTOS DE ESTAS DIRECTRICES)

Por autoridad(es) competente(s) se entiende la organización o agencia(s) gubernamental oficial con jurisdicción en la materia¹.

Por aprobado se entiende oficialmente autorizado o reconocido por una autoridad competente.

Por basado en el riesgo se entiende centrado en una estimación de la probabilidad y gravedad de un efecto perjudicial que ocurre en los consumidores, y proporcional a esta estimación.

Perfil del riesgo: se define en el Manual de Procedimiento del Codex. Para los medicamentos veterinarios el perfil del riesgo relaciona a un sistema de producción con un posible riesgo para la salud del consumidor. El perfil del riesgo forma la base para las aprobaciones y las restricciones de uso.

Por verificación de sistemas se entiende la obtención de información general sobre la medida de aplicación de las prácticas y los controles.

Por programas de verificación dirigidos al riesgo se entiende las inspecciones / auditorías y/o muestreos / análisis de laboratorio dirigidos a proveedores o productos específicos, destinados a la detección de casos fuera de cumplimiento.

Por muestreo insesgado se entiende el muestreo aleatorio de poblaciones específicas para proporcionar información acerca de la presencia de residuos fuera de cumplimiento, normalmente en períodos anuales, y correspondiente al ámbito nacional. Los compuestos seleccionados para el muestreo insesgado por lo general están basados en perfiles de riesgos y en la disponibilidad de métodos de análisis aptos para fines reglamentarios. Los resultados del muestreo insesgado son una medida de la eficacia e idoneidad de los controles y las prácticas dentro de un segmento más amplio del sistema de producción.

Por estudio se entiende la recolección de datos adicionales destinados a la investigación de residuos relacionados con un uso específico de un medicamento veterinario o tipo de producción.

El tiempo de suspensión / tiempo de retención (restricción sobre la cosecha del alimento) se define en el *Glosario de Términos y Definiciones (Residuos de Medicamentos Veterinarios en los Alimentos)* del Codex (CAC/MISC 5-1993). El período también puede ser representado por una combinación de sucesos u otros factores.

Se entiende por sistema de producción los métodos o actividades utilizados para producir alimentos para el consumo humano.

Se entiende por control de calidad (en los laboratorios de análisis de residuos) la vigilancia de aquellos factores relacionados con el análisis de una muestra por parte de un evaluador.

Se entiende por garantía de calidad (en los laboratorios de análisis de residuos) el examen independiente para asegurar que el programa de análisis se esté llevando a cabo de una manera aceptable.

Un sistema de gestión de calidad asegura que un laboratorio se administre y funcione de una manera que cumpla con los requisitos de una norma de calidad reconocida internacionalmente para producir datos y resultados de calidad (p. ej., ISO 17025: 2005).

6. MARCO REGLAMENTARIO

6.1. Funciones

Los empresarios del sector alimentario / las entidades comerciales que participan en la producción, el procesamiento y la comercialización de alimentos tienen la responsabilidad principal de asegurar la inocuidad de los alimentos.

¹ Definición utilizada en las *Directrices del Codex para la Producción, Elaboración, Etiquetado y Comercialización de Alimentos Producidos Orgánicamente* (CAC/GL 32 – 1999).

Las autoridades competentes regulan el uso de los medicamentos veterinarios, verifican que se apliquen las prácticas adecuadas y que las medidas eficaces estén establecidas en la distribución de medicamentos veterinarios y en el sistema de producción de alimentos para ofrecer una protección eficaz a los consumidores y facilitar el comercio, de forma coherente con las metas del Codex Alimentarius.

Las autoridades competentes responsables de proporcionar aseguramientos al consumidor con respecto a los alimentos, deben asegurarse de que tengan suficientes conocimientos y control sobre los medicamentos veterinarios que están siendo vendidos y utilizados dentro de los sistemas de producción, y de que tengan suficientes conocimientos sobre la inocuidad de los alimentos.

6.2. Aprobación por las autoridades competentes

6.2.1. Criterios

Deberían establecerse criterios oficiales de aprobación adecuados. Estos criterios podrían incluir la aceptación de las evaluaciones de otras autoridades competentes reconocidas, donde los patrones de uso tengan probabilidades de ser afines.

Los sistemas de aprobación deberían:

- (a) exigir una evaluación de la inocuidad de los residuos del medicamento veterinario para la salud humana basándose en un análisis de riesgos y estableciendo, cuando corresponda, límites máximos de residuos;
- (b) tomar en cuenta las necesidades de los productores a fin de reducir la tentación de utilizar medicamentos veterinarios no aprobados o sustancias prohibidas.

Los sistemas de aprobación deberían tomar en cuenta que los perfiles de riesgos y las opciones de gestión podrían variar considerablemente entre los sistemas de producción y las regiones.

6.2.2. Restricciones en la aprobación

Las condiciones para obtener la aprobación de medicamentos veterinarios deberían especificarse en las regulaciones nacionales apropiadas.

Para mitigar posibles riesgos, se podrían imponer restricciones sobre lo siguiente:

- (a) las formulaciones;
- (b) los criterios de uso (p. ej., tiempo, especies) y vía de administración;
- (c) las indicaciones de uso; y
- (d) el tiempo de suspensión / el tiempo de retención / la restricción de la cosecha del alimento.

6.2.3. Registro nacional

Todas las formulaciones de los medicamentos veterinarios aprobados en un país deberían anotarse en un registro nacional.

6.3. Información sobre medicamentos veterinarios

Con respecto a la formulación de cada producto veterinario aprobado deberían proporcionarse programas de información y/o educación sobre el uso adecuado para dar un tratamiento eficaz y a la vez conferir protección a los consumidores.

6.4. Venta y uso

Las regulaciones nacionales / regionales deberían establecer qué medicamentos veterinarios pueden venderse en el ámbito nacional y cómo pueden utilizarse. Las formulaciones que no estén anotadas en el registro nacional no deberían utilizarse y debería haber sanciones establecidas para desalentar su uso.

Podría ser apropiado, donde esté justificado por un perfil de riesgos pertinente por las autoridades competentes, imponer condiciones adicionales en la venta y uso de ciertos medicamentos veterinarios para asegurar su uso adecuado y para prevenir el uso indebido o incorrecto.

Las condiciones de venta y uso podrían incluir lo siguiente:

- (a) Exigir que todas las ventas estén sujetas a una receta prescrita por un veterinario u otro profesional con competencias aprobadas.

- (b) Limitar el acto de la administración a personas o profesionales con competencias aprobadas.
- (c) Requerir que todos los sistemas de producción o animales tratados sean identificados en maneras específicas.
- (d) Requerir que todos los usos sean registrados y/o notificados a una base de datos unificada.

Las condiciones de la eficacia y la necesidad de uso deberían ser examinadas regularmente frente al perfil de riesgo local. Al hacer esto debería considerarse que la falta de disponibilidad de tratamientos necesarios podría alentar el uso de medicamentos veterinarios no aprobados o de sustancias prohibidas.

Las autoridades competentes podrían establecer leyes / regulaciones que permitan como una excepción el uso fuera de las indicaciones o no previsto en el prospecto no aprobado de medicamentos veterinarios, de conformidad con las indicaciones por escrito y la supervisión directa de un veterinario. Dichas leyes deberían ser coherentes con los documentos de orientación y de información técnica, tanto nacionales como internacionales, publicados sobre este tema.

En los animales cuya leche, huevos o miel, respectivamente, se estén obteniendo para el consumo humano, sólo deberían utilizarse aquellos medicamentos veterinarios aprobados específicamente para su uso en animales productores de leche, aves ponedoras y abejas. Se pueden establecer exenciones específicas para el uso fuera de las indicaciones o no previsto en el prospecto.

6.5. Responsabilidades de los empresarios del sector alimentario (Orientación sobre mejores prácticas)

Los productores solamente deberían usar los medicamentos veterinarios que han sido aprobados para su uso en los animales destinados a la producción de alimentos. No se deberían utilizar medicamentos veterinarios no aprobados. Los medicamentos veterinarios deberían utilizarse estrictamente de conformidad con las instrucciones aprobadas o reconocidas oficialmente. El uso no previsto en el prospecto o etiqueta de medicamentos veterinarios debería permitirse solamente según el asesoramiento directo y escrito de un veterinario de conformidad con las leyes y las regulaciones de las autoridades nacionales. Dicho asesoramiento debería ser coherente con los documentos de orientación y de información técnica nacionales y/o internacionales publicados sobre este tema.

Se debería exhortar a los productores para que busquen el asesoramiento de veterinarios o de otros profesionales competentes sobre la aplicación del tiempo de suspensión correcto, donde las instrucciones para su uso en el prospecto o etiqueta puedan no estar disponibles o ser confusas.

Deberían mantenerse registros de todos los detalles del tratamiento y del tiempo de suspensión / tiempo de retención requerido antes de que el animal o el producto del animal pueda ser cosechado para el consumo humano.

A los empresarios del sector alimentario (ya sea los productores primarios u otros) se les debería exigir comunicar las restricciones de cosechas de alimentos (tiempos de suspensión / tiempos de retención) que todavía estén vigentes sobre el animal o el producto derivado del animal al momento de la venta a los compradores posteriores del animal o animales.

Se debería exigir a los procesadores asegurarse de que compren y/o procesen animales y/o productos derivados de animales solamente de proveedores (ya sean productores primarios u otros) que puedan atestiguar creíblemente la idoneidad o inocuidad de los animales o de los productos derivados de animales para la finalidad prevista.

Los productores deberían tener establecidas medidas adecuadas para el aseguramiento de la inocuidad alimentaria en el ámbito de la granja, con respecto al uso de medicamentos veterinarios y/o a la exposición de animales destinados a la producción de alimentos a estos medicamentos. Todos los trabajadores que participen en tareas directas con los animales deberían estar familiarizados con estas medidas.

Los productores deberían poder identificar a todos los animales destinados a la producción de alimentos, o los lotes de estos animales, que han sido tratados con medicamentos veterinarios o expuestos a ellos para asegurar el cumplimiento con los tiempos de suspensión / tiempos de retención.

Las medidas continuas del aseguramiento de la inocuidad de los alimentos, tales como el mantenimiento de registros, deberían asegurar que los productos (por ejemplo, la leche, los huevos,

la miel) se cosechen sólo si se han cumplido los tiempos de suspensión / tiempos de retención adecuados.

Los animales tratados o que han estado expuestos, para los que el tiempo de suspensión / tiempo de retención no ha terminado todavía, deberían mantenerse por separado de los animales que no han sido tratados, o ser positivamente identificados, para reducir las probabilidades de cometer errores.

Los productos de animales sujetos a restricciones de cosecha deberían manipularse de tal manera que se asegure que su producto no se mezcle con aquel que está siendo cosechado para el consumo humano. Todo equipo con probabilidades de estar contaminado debería limpiarse adecuadamente antes de ser utilizado en otros animales.

7. PROGRAMAS DE VERIFICACIÓN

7.1. Propósito

Se debería implementar un programa de verificación que combine auditorías o inspecciones de varios puntos de control y pruebas en los puntos de cosecha. Este enfoque reducirá la dependencia en los análisis químicos y proporcionará un mayor grado de aseguramiento.

El objetivo general del programa de verificación es proporcionar un grado adecuado de confianza de que las prácticas y los controles establecidos son adecuados y están siendo aplicados en la medida necesaria para asegurar la salud de los consumidores de productos derivados de animales. Por lo tanto, intentará asegurar que la exposición a los residuos que sobrepasen la IDA ocurra muy rara vez.

Los programas de verificación podrían contribuir a:

- (a) la verificación de las suposiciones que se hicieron en el proceso de registro;
- (b) la identificación de cadenas inaceptables de producción, comercialización y/o cadenas de asesoría;
- (c) la evaluación de la eficacia de la información presentada en el prospecto o etiqueta del medicamento veterinario en cuanto a su relación con la inocuidad alimentaria;
- (d) la evaluación de la eficacia de los programas de educación o de reducción del riesgo;
- (e) la evaluación de los sistemas de gestión de calidad;
- (f) la verificación de la implementación y la eficacia de las medidas correctivas.

7.2. Principios generales de diseño

Los programas de verificación deberían abarcar, según corresponda, la cadena alimentaria completa. Se debería implementar un sistema mixto de inspecciones / auditorías y toma de muestras / análisis de laboratorio. La frecuencia, el punto y el tipo de la actividad deberían basarse en una evaluación del riesgo para proporcionar el control más eficaz.

Los programas de verificación pueden clasificarse de la siguiente manera según el objetivo y los criterios aplicados a la selección de muestras:

- (a) programas de verificación de sistemas;
- (b) programas de verificación dirigidos al riesgo;
- (c) estudios;
- (d) programas de evaluación en los puertos de entrada.

Los programas de verificación pueden concentrarse en la evaluación de:

- (a) la eficacia de un sistema de control; y/o
- (b) el cumplimiento por parte de personas o grupos.

7.3. Diseño del sistema y del programa de verificación dirigida

Los programas de verificación deberían:

- (a) definir su propósito;
- (b) identificar la población que será sometida a muestreo;
- (c) declarar si el muestreo es insesgado o dirigido (directo); y

- basar el número de muestras para los protocolos del muestreo insesgado en la estadística;
 - predeterminar los criterios dirigidos para el muestreo directo;
- (d) predeterminar los criterios a aplicarse al análisis de los resultados;
- (e) definir los procedimientos de muestreo y de identificación que permitan rastrear cada muestra a su origen y la confirmación independiente del resultado en caso de una disputa.

7.4. Elaboración de perfil de riesgos

Las autoridades competentes son responsables de determinar los perfiles de riesgos para su país y/o sistema de producción.

La frecuencia e intensidad de la verificación o inspección / auditoría de cada residuo de medicamento elegido para ser vigilado bajo el programa de verificación del sistema deberían depender del perfil del medicamento veterinario y el uso.

Las consideraciones del perfil de riesgos con respecto a los medicamentos veterinarios incluyen:

- (a) el tipo de peligro presentado;
- (b) la clase y la gravedad del efecto perjudicial para la salud humana relacionado con el residuo (por ejemplo, toxicidad crónica, una reacción alérgica farmacológica aguda o un problema microbiológico);
- (c) las circunstancias de uso y/o producción requeridas para producir los residuos y la probabilidad de que éstas ocurran en los alimentos derivados del sistema de producción en concentraciones y en frecuencias que presenten un riesgo para la salud del consumidor;
- (d) el consumo alimentario requerido para que el residuo dé origen a un riesgo realista para la salud del consumidor.

Las autoridades competentes deberían intentar hacer estimaciones realistas de los tipos, las cantidades y los patrones de uso de los medicamentos veterinarios en su jurisdicción.

Posteriormente, lo siguiente debería tomarse en consideración:

- (a) las circunstancias requeridas para que cada medicamento veterinario tenga un efecto perjudicial en la salud del consumidor;
- (b) las probabilidades de que ocurran tales circunstancias.

Al examinar y clasificar los residuos relacionados con los medicamentos veterinarios con probabilidades de estar presentes en alguna fase del sistema de producción, se deberían describir las posibles fuentes y vías de exposición.

Deberían considerarse las siguientes fuentes de residuos de medicamentos veterinarios:

- (a) los medicamentos veterinarios autorizados en la jurisdicción de la autoridad competente;
- (b) los medicamentos veterinarios que tienen antecedentes conocidos de uso indebido o de los que se sospecha.

Deberían considerarse las vías de exposición de los residuos de medicamentos veterinarios:

- (a) deliberada, p. ej.: Administración directa a los animales;
- (b) administración indirecta a los animales mediante la adición al pienso o al agua;
- (c) contaminación no deliberada mediante p. ej.: el pienso, el agua o el medio ambiente.

Las autoridades competentes deberían, según corresponda a los perfiles de riesgos en el país y/o sistema de producción, considerar los siguientes posibles puntos de control precosecha para auditorías o inspecciones en el programa de verificación:

- (a) los vendedores y compradores de medicamentos veterinarios, a fin de verificar qué es lo que se está vendiendo y cómo se está comercializando;

- (b) los usuarios de medicamentos veterinarios (incluidos los granjeros, los veterinarios y los mezcladores de pienso), a fin de verificar cómo se están utilizando en realidad los medicamentos en los sistemas de producción, por ejemplo, según las indicaciones en el prospecto o etiqueta, qué registros están siendo guardados y cómo se identifica el estado de tratamiento de los animales;
- (c) los distribuidores de animales y productos derivados de animales, a fin de verificar que cualquier restricción sobre la cosecha de alimentos relacionada con el animal o producto esté siendo comunicada eficazmente;
- (d) los sistemas de aseguramiento utilizados por los procesadores y/o productores, a fin de asegurar la idoneidad de los animales o productos que se les está suministrando para los fines previstos de uso.

8. ELECCIÓN DEL PROGRAMA DE VERIFICACIÓN

8.1. Programas de verificación de sistemas

Lo siguiente debería tomarse en cuenta durante el establecimiento de programas de verificación de sistemas:

- (a) un examen de los puntos de control pertinentes del sistema de control;
- (b) el muestreo insesgado de una población específica con características generalmente similares, de manera que los resultados puedan utilizarse para derivar una confianza estadística con respecto a la medida de control presente en esa población en general.

Los programas de verificación de sistemas pueden concentrarse en el grado de aplicación de controles específicos en el proceso o pueden concentrarse en la vigilancia de los residuos en los animales o productos que se encuentran en el punto de cosecha o próximos a éste.

Los programas de muestreo insesgado deberían utilizarse para descubrir si uno de los controles dentro del sistema necesita ajustarse. No debería dependerse de ellos para la evaluación del producto.

Cuando la autoridad competente ha vinculado la aprobación de un medicamento veterinario a condiciones o restricciones de uso específicas a fin de evitar el uso indebido o incorrecto, la idoneidad de las condiciones de uso o de las restricciones de uso debería verificarse con regularidad con programas de verificación dirigidos al riesgo con respecto a su eficacia y la necesidad de gestionar el riesgo presentado por el uso del medicamento veterinario.

En general, los protocolos de muestreo insesgado no son eficaces en la detección de índices bajos de incumplimiento. En casos donde dichos índices representen un posible riesgo considerable para la salud humana, deberían emplearse otros programas de aseguramiento.

8.2. Programas de verificación dirigidos al riesgo

Lo siguiente debería tomarse en cuenta durante el establecimiento de programas de verificación dirigidos al riesgo:

- (a) el desempeño anterior, antecedentes de incumplimiento;
- (b) los componentes de gestión de calidad de los que habitualmente se depende;
- (c) posibles factores de riesgo que pudieran estar correlacionados con un aumento en el uso de medicamentos veterinarios tales como:
 - recuentos celulares somáticos altos en la leche, o
 - hallazgos importantes ante- o post-mortem, p. ej., lesiones en el punto de inyección o determinaciones patológicas;
- (d) cualquier otra información relacionada con el incumplimiento y el uso de medicamentos.

Las autoridades competentes pueden complementar los programas de verificación precosecha dirigidos al riesgo con programas establecidos de verificación poscosecha dirigidos al riesgo.

8.3. Estudios

Pueden realizarse estudios para:

- (a) evaluar la situación inicial antes de que se empiece un programa de verificación;

- (b) evaluar la eficacia y la idoneidad de aspectos específicos de los programas de control;
- (c) vigilar las repercusiones que variables tales como la ubicación, la temporada o la edad pudieran tener en la presencia, ausencia o la concentración de un residuo.

8.4. Revisión

Los programas de control y verificación deberían revisarse con regularidad a fin de asegurar su eficacia y/o necesidad continua, así como también para examinar las posibles repercusiones de los cambios en los perfiles de riesgos.

Cuando se identifique un índice considerable de incumplimiento en un período anual y se implementen los consiguientes cambios al programa de control, podría ser adecuado tener una norma mayor de verificación hasta que la eficacia de las medidas correctivas haya sido demostrada. Algunos de los medicamentos veterinarios seleccionados con perfiles de riesgos menores deberían considerarse para rotación dentro y fuera del programa tomando como base los antecedentes de cumplimiento para asegurar que el ámbito de aplicación sea lo más amplio posible.

9. TOMA DE MUESTRAS

9.1. Principios generales

Deberían establecerse mecanismos adecuados para prevenir la posible falta de parcialidad que pudiera ocurrir tanto en la selección como en la toma de muestras.

De preferencia, las muestras deberían tomarse antes de que los animales y/o los productos sean mezclados con los animales o productos de otros proveedores.

9.2. Rastreabilidad / rastreo de productos

Las autoridades competentes deberían asegurar que el origen de todas las muestras pueda ser identificado a lo largo de todo el proceso de la toma de muestras, el almacenamiento, el envío o transporte, el análisis y la preparación de informes.

Cada muestra debe ser claramente identificada de manera que puedan aplicarse las medidas de seguimiento adecuadas en caso de que se tengan resultados fuera de cumplimiento.

Si se toman muestras de subunidades de una remesa, se debe prestar la debida atención para identificar a esas subunidades claramente. Se debería tomar una cantidad suficiente de muestra para permitir que se guarden subunidades no procesadas de la misma, de manera que puedan realizarse posibles confirmaciones independientes de los resultados.

10. CONSIDERACIONES ESTADÍSTICAS

10.1. Generalidades

El número de muestras para los programas de verificación de sistemas puede predeterminarse estadísticamente (véase el Apéndice A para orientación adicional).

Al diseñar un protocolo de muestreo, es esencial definir tanto el propósito del programa como la población de interés. También es importante definir los criterios que se aplicarán al análisis de los resultados con respecto a la necesidad o conveniencia de acciones adicionales, y especialmente cómo tales criterios y acciones están directamente relacionados con la protección de la salud humana.

Al final, “una población” formada por “unidades de alimentos consumidos” es la más relevante para la salud humana. Sin embargo, debido a que la aplicación de las prácticas y controles precosecha adecuados es lo que asegura la inocuidad de los alimentos, una estrategia de muestreo que verifica tanto la idoneidad como la medida de cumplimiento de estas prácticas y controles precosecha puede utilizarse para proporcionar aseguramientos adecuados de que es poco probable que la salud de los consumidores se vea negativamente afectada. Por lo general, la población de interés a quien se debe dirigir la información sobre la verificación del cumplimiento o la idoneidad precosecha serán aquellas unidades poblacionales a las que se deberían aplicar las prácticas y controles comunes, tales como:

- (a) el vendedor del medicamento veterinario que entra en el sistema de producción;
- (b) el productor;
- (c) el proveedor de animales o productos derivados de animales al procesador; o
- (d) el procesador.

No obstante, debido a que las posibles consecuencias para la salud humana son mucho mayores cuando grandes unidades de producción (granjas) se encuentran fuera de control, la población precosecha habitual que se somete a un muestreo al azar es una unidad normalizada de producción vendida en cualquier momento dado, p. ej., un animal individual, una cuba de leche, un barril de miel o un peso definido de un producto de acuicultura. De esta manera, los productores o proveedores mayores deberían tener, de hecho, una probabilidad mayor de ser sometidos a muestreo mientras que a su vez se mantiene todavía el carácter aleatorio del protocolo de muestreo.

Generalmente, se obtendrán las conclusiones de la prevalencia, o la falta de ésta, de los resultados fuera de cumplimiento en las unidades sometidas a muestreo durante la temporada de producción o el año calendario. No obstante, cuando se encuentren problemas durante el transcurso de la temporada de producción, es probable que ya se hayan aplicado medidas correctivas y que éstas hayan empezado a tener un efecto positivo mucho antes del término de la temporada de producción o del año calendario. Para las pequeñas poblaciones, o para los panoramas de exposición ya sea de bajo riesgo o razonablemente estables, se podrían utilizar o necesitar varias temporadas de producción o años calendario para obtener el número de muestras determinado estadísticamente para obtener el nivel de confianza requerido.

Cuando es posible refinar y describir en más detalle la población afectada relacionada con los factores de riesgo definidos, tales como la temporada, la región o un tipo de producción específico, entonces se podría justificar una correlación del protocolo de muestreo con una covariable tal.

El punto en el que se toma una muestra depende del objetivo del programa en cuestión. Cuando el objetivo es verificar la eficacia de los controles en la fase del proveedor, las muestras se toman generalmente en el punto de venta o cosecha a fin de correlacionar la unidad sometida a muestreo con un proveedor o productor.

El muestreo en las granjas también podría utilizarse como parte de un programa de garantía de calidad precosecha o donde haya preocupaciones relacionadas con el posible uso de sustancias que están prohibidas por las autoridades competentes.

Cuando el objetivo es verificar la eficacia general de un sistema para asegurar que la exposición de la población en general es menor que la IDA, entonces las unidades múltiples de muestreo pueden mezclarse antes del análisis, o el producto mezclado puede someterse a muestreo y análisis.

Cuando el objetivo es verificar la credibilidad y eficacia de los programas de control y verificación existentes en un país exportador, las muestras pueden tomarse de unidades normalizadas de exportación en el puerto de entrada. Tales programas de verificación secundaria tienen consideraciones de diseño muy diferentes con respecto a su objetivo, la población de interés y el tipo de respuesta a cualquier caso identificado fuera de cumplimiento. Las tablas estadísticas en el Apéndice A no son pertinentes a tales programas, y el número de muestras debería reflejar la confianza que el país importador tiene en el desempeño del país exportador.

10.2. Retención de las remesas durante la realización de los análisis de laboratorio

Las autoridades competentes no deberían retener rutinariamente los lotes de producción relacionados con las muestras seleccionadas aleatoriamente en espera de la disponibilidad de los resultados de los análisis. Las autoridades competentes podrían retener rutinariamente los lotes de producción cuando se considera muy probable que una prueba dirigida al riesgo producirá resultados fuera de cumplimiento que presentan un posible riesgo para la salud del consumidor.

10.3. Interpretación de los resultados

Se logra un grado mayor de aseguramiento si se llevan a cabo en paralelo programas de verificación tales como sistemas basados en la estadística que incluyen el muestreo insesgado y que están dirigidos al riesgo (p. ej., dirigidos a proveedores o productos específicos).

Los resultados de los programas de verificación dirigidos al riesgo no permiten obtener por sí solos conclusiones sobre la exposición de la población en general a los residuos de medicamentos veterinarios.

Se pueden obtener conclusiones sobre la exposición de la población en general al combinar los resultados de los:

- (a) programas de verificación de sistemas basados en la estadística, que incluyen el muestreo insesgado, y
- (b) programas de verificación dirigidos al riesgo.

10.4. Programas de evaluación en los puertos de entrada (requisitos específicos)

Las autoridades competentes deberían considerar los programas de evaluación en los puertos de entrada sólo como una herramienta de verificación secundaria del sistema.

Las matrices utilizadas en los programas de los puertos de entrada podrían ser distintas de aquellas utilizadas en los programas nacionales de verificación.

Salvo en casos donde se sospeche o detecte un riesgo para la salud, un producto certificado debería ser sometido a muestreos insesgados y a programas de aprobación en una frecuencia determinada por el país importador basado en el registro de cumplimiento del país exportador. Las remesas de productos animales tienden a ser heterogéneas por naturaleza y con frecuencia estarán formadas por una variedad de animales, granjas y fechas de procesamiento. Los resultados reflejarán el funcionamiento / rendimiento del sistema nacional de control y verificación en su totalidad y no deberían extrapolarse para tomar decisiones específicas sobre otras unidades dentro de la remesa, salvo donde se comparta un factor de riesgo precosecha común y haya indicaciones de una amenaza directa para la salud.

La aplicación del muestreo directo o dirigido en los programas de muestreo en los puertos de entrada es solamente adecuada cuando se sabe o se sospecha que los productos comparten el mismo perfil de riesgos.

No obstante, tras la detección de resultados fuera de cumplimiento durante la aplicación de los programas del puerto de entrada, los países importadores podrían aumentar la frecuencia general de evaluaciones de alimentos directamente relacionados de origen animal del país exportador por un período específico, como una verificación adicional de la eficacia de cualquier control adicional que esté siendo implementado por el país exportador.

En la interpretación de los resultados de laboratorio de las remesas de productos derivados de animales, debería considerarse que éstos pertenecen a productos mezclados de una variedad de animales, granjas y fechas de procesamiento y que, por lo tanto, son heterogéneos. Debido a esto, los resultados no deberían utilizarse para juzgar a otras unidades de una remesa, a excepción de las unidades que compartan un factor de riesgo precosecha común y donde se sospeche o se detecte un riesgo directo para la salud.

Los resultados de los programas de evaluación en los puertos de entrada solamente deberían comunicarse si se confirman con métodos completamente validados para la matriz y los análisis específicos.

Los informes de laboratorio sobre los resultados fuera de cumplimiento deberían incluir lo siguiente:

- (a) una descripción del método utilizado;
- (b) características funcionales del método de análisis (incluido el intervalo de confianza del resultado).

Los informes de laboratorio sobre los resultados fuera de cumplimiento deberían distribuirse a todas las partes afectadas por el resultado (por ejemplo, el propietario de la remesa y la autoridad competente certificadora del país exportador).

Las autoridades competentes de los países importadores deberían proporcionar con regularidad a los países exportadores los resultados de sus programas de verificación, incluida la información para propósitos de rastreabilidad/rastreo de productos.

En los casos de incumplimiento con los parámetros de inocuidad de los alimentos, las autoridades competentes del país exportador deberían llevar a cabo un rastreo de origen, aplicar las medidas correctivas adecuadas y luego proporcionar un resumen de ellas al país importador.

Cuando el tipo, índice y/o frecuencia del incumplimiento detectado provoque preocupaciones respecto a si las importaciones están cumpliendo o no con la norma de protección para la salud humana requerido por el país importador, entonces se podrían pedir aseguramientos adicionales.

El país importador también podría decidir aumentar la frecuencia de la verificación en el puerto de entrada para confirmar que los aseguramientos proporcionados están, de hecho, abordando el problema.

Cuando en las pruebas del puerto de entrada se detecten residuos de sustancias que no deberían utilizarse en animales destinados a la producción de alimentos ya sea en el país exportador o en el país importador, ambas autoridades competentes deberían cooperar a fin de identificar posibles alimentos de origen animal similarmente afectados y resolver cualquier posible problema de control más extendido.

La resolución de tales problemas requerirá que el país de origen realice un análisis para determinar la posible fuente de dichos residuos, la identificación de deficiencias dentro del sistema de control y vigilancia de ese país, y la posterior aplicación de medidas y controles adicionales adecuados para tratar la situación.

En los casos donde el país exportador sea una nación menos desarrollada, el país importador debería considerar proporcionar asistencia técnica para ayudar a solucionar el problema.

La aplicación de nuevos métodos de muestreo y evaluación podría revelar la presencia de tipos y concentraciones de residuos cuya existencia era desconocida anteriormente por uno o ambos países. La determinación de la fuente de dichos residuos y de su importancia podría tomar un poco de tiempo.

Cuando la presencia de tales residuos se relacione con prácticas de producción previamente aceptadas, la implementación de cambios, si se consideraran necesarios, podría requerir un tiempo prolongado para el desarrollo de capacidades.

11. MEDIDAS REGLAMENTARIAS

11.1. Investigación de los casos fuera de cumplimiento

Las autoridades competentes deberían investigar cada resultado fuera de cumplimiento para determinar qué factores contribuyeron a su presencia y la importancia sistémica del caso identificado.

Se debería tratar de identificar las sustancias y la importancia de su presencia en los alimentos para la salud del consumidor.

Cuando un tejido animal o alimento contenga residuos que sobrepasen el LMR pertinente en el punto de la cosecha, deberían considerarse las siguientes posibilidades:

- (a) El medicamento veterinario no fue utilizado según las instrucciones del prospecto / etiqueta o de la receta veterinaria.
- (b) Se utilizó un medicamento veterinario o formulación no autorizada.
- (c) No se observó el tiempo de retención recomendado o no es adecuado.
- (d) Se mezclaron los animales tratados con los animales no tratados.
- (e) Ocurrió una exposición no deliberada en el pienso, agua o ambiente contaminado.
- (f) El alimento es parte del pequeño porcentaje estadísticamente previsible de los animales con residuos que sobrepasan el LMR incluso cuando el período de retiro exigido ha caducado.
- (g) Contaminación de la muestra, problemas en el método de análisis o error analítico.

Los laboratorios deberían informar de todas las muestras que se sospechen ser positivas pero que no han podido ser confirmadas de forma concluyente utilizando criterios de confirmación establecidos. Esto permitirá a las autoridades competentes identificar los posibles patrones de incumplimiento.

11.2. Medidas en caso de incumplimiento: Conducta

Las autoridades competentes deberían ajustar la escala y el tipo de respuesta a los incumplimientos identificados con respecto a la importancia relativa que el respectivo peligro tenga para la protección de la salud del consumidor.

Las autoridades competentes deberían aplicar medidas proporcionales cuando examinen si el incumplimiento es el resultado de negligencia o intención.

En casos de errores aislados debido a ignorancia o negligencia, las autoridades competentes deberían exigir que se sigan las debidas medidas de asesoramiento y capacitación.

En caso de que se compruebe la negligencia o la intención, deberían considerarse medidas punitivas que sean coherentes con el sistema penal del país miembro del Codex (p. ej., condenas, multas, controles de movimiento, etc.) para desalentar tales acciones.

En caso de que el incumplimiento esté muy extendido, las autoridades competentes deberían asesorar a las partes interesadas y motivar al respectivo sector empresarial para iniciar los cambios necesarios.

Las autoridades competentes deberían verificar que se tomen las medidas correctivas apropiadas y vigilar el éxito de estas medidas por medio de inspecciones / auditorías y/o muestreos / análisis de laboratorio.

11.3. Medidas en caso de incumplimiento: Producto

El producto que no sea inocuo no debería aprobarse como apto para el consumo humano y debería desecharse de manera adecuada.

Cuando los resultados de las muestras tomadas en la granja para los programas de verificación dirigidos al riesgo no proporcionen la confianza necesaria de que el resto del lote ha sido producido utilizando las prácticas y los controles adecuados, el lote no debería aprobarse para el consumo humano sino hasta que pueda generarse suficiente información para proporcionar el grado requerido de aseguramiento con respecto a su inocuidad.

Cuando los resultados indiquen que hay un riesgo directo para la salud del consumidor, debería intentarse rastrear y retirar todo el producto afectado de modo similar.

En los programas de muestreo insesgado la proporción no identificada podría representar una amenaza potencial mucho mayor para los consumidores que la proporción identificada. Por consiguiente, todas las medidas aplicadas con respecto al lote identificado fuera de cumplimiento son menos importantes que las medidas aplicadas al sistema en su totalidad.

Cuando no se aplican los controles precosecha o no son fiables debido a un alto índice del uso indebido de medicamentos veterinarios, la verificación poscosecha más frecuente podría ser adecuada para proporcionar el grado requerido de aseguramiento al consumidor. Esto debería considerarse una medida provisional solamente hasta que puedan establecerse las medidas correctivas adecuadas en el programa de control y se demuestre su eficacia posteriormente.

11.4. Medidas correctivas en caso de incumplimiento

Dependiendo de los resultados de tales investigaciones, las medidas correctivas locales y/o sistémicas podrían considerarse adecuadas para prevenir la recurrencia.

Cuando la investigación de los incumplimientos indique que las disposiciones del uso y la distribución para la(s) sustancia(s) son inadecuadas, las autoridades competentes deberían aplicar las medidas correctivas adecuadas al modificar las reglas de aprobación y distribución.

Cuando la investigación de los incumplimientos identifique fallas de control locales o sistémicas, las autoridades competentes deberían asegurar que se apliquen medidas correctivas adecuadas en los puntos pertinentes.

Las autoridades competentes deberían verificar la aplicación de las medidas. La respectiva medida debería ser proporcional en tiempo e intensidad al peligro para la salud del consumidor, la escala y la frecuencia del incumplimiento.

En casos donde la falla se encuentre fuera del control directo del empresario del sector alimentario, las autoridades competentes deberían prevenir la repetición de la falla al aplicar las medidas adecuadas en el punto de control pertinente.

12. INTERACCIÓN ENTRE LOS PROGRAMAS DE CONTROL DE DOS AUTORIDADES COMPETENTES

Las autoridades competentes deberían cooperar para asegurar que la salud del consumidor se proteja en todos los países.

El objetivo de esta cooperación es lograr un mejor aseguramiento que el que puede obtenerse por medio de la dependencia exclusiva en los programas de inspección en los puertos de entrada.

Los países que participan en el comercio deberían intercambiar copias de sus programas de control y verificación junto con los resultados de estos programas de años anteriores de una forma periódica.

Para facilitar el comercio de los países en desarrollo, deberían considerarse períodos de transición mayores y asistencia técnica con respecto a todos los aspectos de un programa de control de residuos.

MÉTODOS DE ANÁLISIS PARA EL CONTROL DE RESIDUOS

Consideraciones generales sobre los métodos de análisis para el control de residuos

13. INTRODUCCIÓN

Los métodos de análisis utilizados para determinar el cumplimiento con los límites máximos de residuos para medicamentos veterinarios (LMRMV) deberían ser adecuados para el uso rutinario por parte de las autoridades competentes de los gobiernos miembros para sus programas de evaluación para todos los residuos de medicamentos veterinarios y sustancias que pudieran ser utilizadas como medicamentos veterinarios. Esto incluye ciertos plaguicidas que tienen usos veterinarios y que pudieran estar presentes como residuos en productos. Estos métodos pueden utilizarse para el análisis de muestras de evaluación seleccionadas al azar en un programa de control reglamentario nacional para determinar el cumplimiento con los LMRMV establecidos, para el análisis de muestras elegidas como objetivo cuando haya motivos para sospechar el incumplimiento con LMRMV o para la recopilación de datos a utilizarse en la estimación de la ingesta.

También se podrían necesitar métodos en los programas de control reglamentario para la detección de residuos de sustancias para las que la Comisión del Codex Alimentarius no ha establecido LMRMV ni IDA. Para algunas sustancias, la evaluación toxicológica conlleva la conclusión de que no se debería establecer una IDA ni un LMRMV. Para dichas sustancias, la determinación de la concentración más baja en la que se puede detectar el residuo así como confirmar la identidad en un alimento es una preocupación primordial sobre el método de validación. Las características funcionales relacionadas con los análisis cuantitativos pueden ser menos críticas para tales sustancias, donde la detección y la confirmación de la presencia de la sustancia como un residuo constituyen la cuestión más importante. La confirmación de la identidad de un residuo está basada por lo general en la comparación de un grupo de características de una sustancia detectada con aquellas de un patrón de referencia del residuo en duda.

No siempre se dispone de métodos adecuadamente validados para todas las posibles combinaciones de residuos de medicamentos veterinarios y alimentos. Las autoridades competentes responsables del diseño de los programas nacionales de control de residuos deberían asegurar que se utilicen los métodos de análisis de residuos adecuados para garantizar el cumplimiento con los LMRMV del Codex. En algunas ocasiones, esto podría requerir la elaboración y la validación de un nuevo método de análisis o la extensión de la validación de un método de análisis vigente para incluir una nueva combinación de analito y matriz. Entonces se podrían tomar medidas reglamentarias adecuadas contra los productos adulterados, que concuerden con la fiabilidad de los datos analíticos.

14. INTEGRACIÓN DE MÉTODOS DE ANÁLISIS PARA EL CONTROL DE RESIDUOS

Los métodos de análisis para residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos deben detectar con fiabilidad la presencia de un analito de interés, determinar su concentración e identificar correctamente al analito. Cuando residuos que resultan del uso de medicamentos veterinarios aprobados se detectan en concentraciones superiores al LMRMV establecido, se deberían confirmar los resultados antes de que se tomen las medidas de aplicación reglamentaria. En el caso de sustancias cuyo uso ha sido prohibido por una autoridad competente en los animales destinados a la producción de alimentos, o para los que no se ha establecido una IDA ni LMRMV por razones toxicológicas, la presencia confirmada de residuos en cualquier concentración en un alimento podría resultar en una medida reglamentaria.

Las características funcionales principales de los métodos de análisis utilizados en los programas de control de residuos dependen de si el método tiene como finalidad simplemente detectar, cuantificar o confirmar la presencia de un residuo elegido como objetivo. La terminación de un estudio de colaboración total² no es un requisito para el reconocimiento de un método a fin de colocarlo en una de estas tres categorías.

Los métodos de selección son de carácter cualitativo o semicuantitativo y se utilizan como métodos de selección para identificar la presencia (o ausencia) de muestras de un hato o lote que pudieran contener residuos que sobrepasen un LMRMV o algún otro límite de medidas reglamentarias

² Horwitz, W. 1995. *Protocol for the design, conduct and interpretation of method performance studies* (Protocolo para el diseño, aplicación e interpretación de estudios de funcionamiento de métodos). *Pure and Applied Chemistry*, **67**:331-343.

establecido por una autoridad competente. Es posible que estos métodos no proporcionen información adecuada para definir con exactitud la concentración presente o para confirmar la estructura de un residuo pero pueden utilizarse para determinar rápidamente qué productos requieren una evaluación más a fondo y qué productos pueden considerarse aceptables. Podrían aplicarse a una muestra en el punto de entrada en la cadena alimentaria, en el lugar de inspección o al momento de recibir una muestra en el laboratorio para determinar si la muestra contiene residuos que pudieran sobrepasar un límite reglamentario. Tales métodos por lo general proporcionan una eficacia analítica mayor, algunas veces pueden realizarse en entornos fuera del laboratorio y el costo de su uso puede ser menor para los programas de control reglamentario que el de las pruebas realizadas dentro de un laboratorio. El uso de los métodos de selección permite que los recursos del laboratorio se concentren en el análisis de muestras supuestamente positivas (sospechosas) identificadas utilizando estas pruebas. Estos métodos, que debieran tener un índice definido y bajo de resultados negativos falsos, no deberían utilizarse solos para efectos del control de residuos en muestras oficiales sin la disponibilidad de métodos cuantitativos y/o de confirmación debidamente validados a aplicarse a cualquier muestra identificada a encontrarse posiblemente fuera de cumplimiento con un LMRMV.

Los métodos cuantitativos proporcionan información cuantitativa que puede ser utilizada para determinar si los residuos en una muestra en particular sobrepasan un LMRMV o algún otro límite de una medida reglamentaria, pero no proporcionan una confirmación inequívoca de la identidad del residuo. Estos métodos, que proporcionan resultados cuantitativos, deben funcionar con un buen control estadístico dentro de una escala analítica que comprenda el LMRMV o límite de la medida reglamentaria.

Los métodos de confirmación proporcionan una confirmación inequívoca de la identidad del residuo y pueden también confirmar la cantidad presente. Los métodos de confirmación son los más definitivos y con frecuencia están fundamentados en combinaciones de técnicas de cromatografía y espectrometría de masas, tales como la cromatografía de líquidos y la espectrometría de masas (CL-EM). Estos métodos, cuando se utilizan para confirmar la identidad de residuos, deberían proporcionar información estructural fiable dentro de los límites estadísticos establecidos. Cuando el método de confirmación no proporciona información cuantitativa, el resultado de cuantificación del método cuantitativo original debería verificarse por medio del análisis de porciones de ensayo duplicadas utilizando el método cuantitativo original o un método cuantitativo alternativo debidamente validado.

Estas tres categorías de métodos, es decir, de selección, cuantitativos y de confirmación, frecuentemente comparten algunas características funcionales. Además, cada categoría tiene otras consideraciones específicas. Es importante entender la relación entre estas tres categorías de métodos para la elaboración y la operación de un programa equilibrado para el control de residuos. Estas tres categorías de métodos pueden aplicarse consecutivamente en un programa de control de residuos.

Las muestras que tienen resultados "positivos" a las pruebas de métodos de selección se consideran sospechosas y por lo general se designan a ser analizadas nuevamente en el laboratorio utilizando métodos más definitivos. Esto podría incluir pruebas repetidas de porciones de ensayo duplicadas, con un método de selección, pero típicamente se utilizan los métodos cuantitativos y/o de confirmación en el laboratorio para determinar que la muestra contiene de hecho residuos que sobrepasan el límite reglamentario. Dichas pruebas deberían realizarse en nuevas porciones de ensayo del material de muestra utilizado en la prueba de selección inicial para confirmar que el analito detectado en la prueba inicial es definitivamente el compuesto sospechoso y que ha sobrepasado sin lugar a duda el LMRMV (u otro límite establecido por las autoridades para medidas reglamentarias). Las características funcionales, o atributos, que deben determinarse durante la validación del método para cada tipo de método (de selección, cuantitativo y de confirmación) se presentan en el siguiente capítulo, "*Características de los métodos de análisis de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos*".

15. CONSIDERACIONES PARA LA SELECCIÓN Y LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE ANÁLISIS

15.1. Identificación de requisitos relativos a los métodos

15.1.1. *Ámbito de aplicación del método*

El uso previsto del método se define habitualmente en una declaración del *ámbito de aplicación* en la que se define a los analitos (los residuos), las matrices (tejidos, leche, miel, etc.) y la escala de concentraciones a la que se aplica el método. En el ámbito también se declara si el método tiene como finalidad ser utilizado como método de selección, método cuantitativo o método de confirmación. Las autoridades competentes deben establecer un *residuo marcador* adecuado para cada medicamento para el que se ha establecido un LMRMV y también deberían designar un *tejido elegido como objetivo* preferido que será el objeto del muestreo para los análisis.

15.1.2. *Residuo marcador*

El LMRMV se expresa en función del residuo marcador, el cual podría ser el medicamento original, un metabolito principal, la suma de un medicamento original y/o metabolitos o un producto de la reacción formado a partir de los residuos del medicamento durante el análisis. En algunos casos, el medicamento original o el metabolito podría estar presente en la forma de un residuo unido o ligado que requiera un tratamiento químico o enzimático o una incubación para liberarse para el análisis. Es importante que el residuo marcador debiera, de ser posible, proporcionar una prueba inequívoca de la exposición al medicamento. En situaciones muy poco comunes, es necesario utilizar compuestos como residuos marcadores que también pudieran resultar de fuentes distintas de la exposición al medicamento. En tales casos, se requiere información adicional para determinar que la fuente probable del residuo es la exposición al medicamento. Un ejemplo de una situación tal es el uso de la semicarbazida como residuo marcador para el medicamento nitrofurazona, donde la presencia de la semicarbazida podría ser el resultado de otras fuentes.

15.1.3. *Tejido elegido como objetivo*

El tejido elegido como objetivo que es habitualmente seleccionado por las autoridades competentes para ser analizado en la detección de residuos de medicamentos veterinarios es el tejido comestible en el que los residuos del residuo marcador están presentes en las concentraciones más altas y son los más persistentes. Para las sustancias lipofílicas, el tejido elegido como objetivo es por lo general la grasa. Para la mayoría de las demás sustancias, el tejido elegido como objetivo es el hígado o el riñón, dependiendo de la ruta principal de eliminación. Uno de estos tejidos es habitualmente el tejido elegido como objetivo que es designado para utilizarse en la evaluación de alimentos de origen animal producidos nacionalmente. Los tejidos de los órganos pueden no estar disponibles para evaluar los productos importados, es por ello que el tejido muscular podría ser el tejido elegido como objetivo para evaluar estos productos. En algunos casos, tales como en los medicamentos que son administrados normalmente como formulaciones inyectables, se podría requerir la evaluación de tejido muscular de los puntos de inyección sospechosos. El gerente del programa reglamentario y los gerentes del laboratorio necesitan identificar claramente los objetivos de las pruebas y los requisitos analíticos requeridos en función de los tejidos elegidos como objetivo, los residuos marcadores y las escalas de concentraciones, a fin de asegurar que se utilicen los métodos adecuados en el programa de control reglamentario. En ciertas situaciones, las autoridades competentes también podrían utilizar líquidos biológicos, tales como la orina o el suero, para indicar la presencia o la ausencia de los residuos de interés.

15.2. **Implementación de otras directrices de la Comisión del Codex Alimentarius**

La Comisión del Codex Alimentarius ha publicado directrices para los laboratorios que participan en la evaluación de importaciones y exportaciones de alimentos³, en las que se recomienda que tales laboratorios debieran:

- (a) Emplear procedimientos de control de calidad interno, tales como los que se describen en las "Directrices Armonizadas para el Control de Calidad Interno en Laboratorios de Química Analítica"⁴;
- (b) participar en planes adecuados de pruebas de competencia para el análisis de alimentos que se ajusten a los requisitos establecidos en el "Protocolo Internacional Armonizado de Pruebas de Competencia para Laboratorios de Análisis (Químicos)"⁵;
- (c) cumplir con los criterios generales para los laboratorios de ensayo establecidos en la Guía ISO/IEC-17025:2005 "Requisitos generales de competencia para laboratorios de calibración y ensayo"; y
- (d) si los hubiera, utilizar métodos que han sido validados según los principios establecidos por la Comisión del Codex Alimentarius.

Los métodos utilizados para los análisis de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos deberían ser capaces de detectar los compuestos incluidos en el programa de control de residuos. La recuperación analítica y la precisión para los alimentos elegidos como objetivo deberían cumplir con los criterios establecidos en otras partes de este documento. Los métodos deberían utilizarse dentro

³ CAC/GL 27-1997. *Directrices para Evaluar la Competencia de los Laboratorios de Ensayo que Participan en el Control de las Importaciones y Exportaciones de Alimentos.*

⁴ *Pure and Applied Chemistry*, **67** (1995): 649-666.

⁵ *Pure and Applied Chemistry*, **78** (2006) 145 - 196.

de un sistema establecido de gestión de calidad del laboratorio que tenga coherencia con los principios descritos en el documento sobre el control de calidad interno citado anteriormente. Cuando en un programa reglamentario para el control de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos se utilizan métodos que no han sido objeto de un estudio de funcionamiento realizado por varios laboratorios, los procedimientos de control de calidad y de garantía de calidad aplicados con estos métodos requieren una definición, implementación y vigilancia detenidas. En el caso de métodos que han sido objeto de estudios realizados por varios laboratorios, las características funcionales, tales como la recuperación y la precisión, se definen mediante los resultados obtenidos durante el estudio. Para los métodos que son validados por un solo laboratorio, se deben generar datos para definir las características funcionales que serán previstas cuando los analistas utilicen el método dentro de ese laboratorio. El funcionamiento en curso deberá vigilarse por medio del sistema de gestión de calidad que esté establecido en el laboratorio.

15.3. Validación de métodos e idoneidad para el uso previsto

El proceso de validación de métodos tiene como objetivo demostrar que un método es *apto para el uso previsto*. Esto significa que en las manos de un analista debidamente capacitado, utilizando el equipo y los materiales especificados, y siguiendo los procedimientos descritos en el método, se pueden obtener resultados fiables y sistemáticos dentro de límites estadísticos especificados para el análisis de una muestra. La validación debería abordar las cuestiones relacionadas con el residuo marcador, el tejido elegido como objetivo y la escala de concentraciones identificadas por el laboratorio en colaboración con el gerente del programa de residuos. Cuando un analista capacitado, que trabaja en un laboratorio competente en materia de control de residuos, sigue el protocolo del método utilizando las normas analíticas adecuadas, se deberían obtener resultados dentro de los límites de funcionamiento establecidos, para el análisis del mismo material de muestra o en uno equivalente.

Los estudios de funcionamiento de métodos realizados por varios laboratorios generalmente satisfacen los requisitos analíticos para el uso en un programa reglamentario. Estos métodos son objeto de un estudio interlaboratorios debidamente diseñado, con analistas en laboratorios independientes, de manera que los participantes utilicen distintas fuentes de reactivos, materiales y equipo.

Se han evaluado los métodos cuantitativos estudiados en colaboración según el protocolo armonizado revisado adoptado en 1995 por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (*AOAC International*), la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (*IUPAC*) y la Organización Internacional de Normalización (*ISO*) en un mínimo de 8 laboratorios, salvo cuando se identificó la necesidad de equipo muy complejo u otros requisitos poco habituales (en tales casos, se requiere un mínimo de 5 laboratorios participantes)⁷. Para los estudios en colaboración de métodos cualitativos, actualmente se requiere un mínimo de 10 laboratorios participantes. Los estudios en colaboración realizados antes de 1995 completaron la evaluación de métodos en un mínimo de seis laboratorios, en un estudio aceptable, estadísticamente diseñado. Estos estudios de funcionamiento de métodos, realizados por varios laboratorios, generalmente satisfacen los requisitos analíticos para su uso en un programa reglamentario, puesto que a través de ellos se obtiene información sobre el funcionamiento del método a mano de diferentes analistas y en diferentes laboratorios. Sin embargo, son relativamente pocos los métodos de análisis utilizados actualmente en los programas de control de residuos para los residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos que han sido validados por un estudio tal realizado por varios laboratorios. Los diseños de estudios en colaboración están fundamentados en los análisis de materiales de ensayo duplicados, codificados, que representan las combinaciones de analitos, matrices y concentraciones incluidas en el ámbito de aplicación del método e incluyen una revisión independiente por colegas, tanto del diseño como de los resultados del estudio. En algunas situaciones, cuando no se cuenta con el mínimo número de laboratorios requerido para calificar como un estudio en colaboración, se podrían llevar a cabo estudios realizados por varios laboratorios. Tales estudios, cuando se realizan utilizando los mismos principios científicos de diseño, evaluación y revisión que aquellos que son aplicados en los estudios en colaboración, pueden proporcionar información útil sobre el funcionamiento del método a manos de los varios analistas en los distintos laboratorios, pero no proporcionan el mismo grado de confianza estadística que se obtiene de los resultados de un estudio en colaboración.

Los estudios de métodos realizados por varios laboratorios, así como los estudios en colaboración, por lo general no abarcan todas las combinaciones posibles de residuos, tejidos y especies a las que el método podría ser aplicado posteriormente. Los métodos pueden extenderse para incluir analitos afines, tejidos, especies o productos adicionales (o combinaciones de aquellos que no fueron incluidos en el estudio original realizado por varios laboratorios) al completar estudios adicionales realizados por un solo laboratorio. Los resultados analíticos de estudios de extensión de métodos podrían necesitar revisiones adicionales antes de que puedan utilizarse en un programa

reglamentario. Siempre que sea posible, los resultados analíticos obtenidos mediante el uso de métodos que no han sido validados por estudios interlaboratorios tradicionales deberían ser comparados con los resultados obtenidos con un método que ha sido validado por un estudio en colaboración o un estudio realizado por varios laboratorios o evaluados utilizando materiales de muestra de un programa de competencia reconocido. La comparación debería fundamentarse en un diseño de estudio estadísticamente aceptable, utilizando porciones de las mismas muestras (homogéneas). Los datos de tales estudios deberían ser revisados independientemente por un tercero calificado (tal como una unidad de Garantía de calidad, colegas que desempeñan tareas como científicos reglamentarios, auditores de un órgano de acreditación nacional, etc.) para determinar la comparabilidad del funcionamiento del método.

Algunos de los métodos de control de residuos que han sido demostrados a ser adecuados para la determinación del cumplimiento con los LMRMV tienen antecedentes de uso en uno o más laboratorios de expertos, pero no han sido objeto de un estudio oficial realizado por varios laboratorios. Se demostró que estos métodos eran adecuados al momento del uso reglamentario inicial y su uso ha continuado a lo largo de un período extendido, ya sea en la ausencia de métodos validados alternativos, o porque continúan siendo una elección preferida por motivos que pudieran incluir el uso de la tecnología disponible, el costo, la fiabilidad y la idoneidad para el uso dentro de las limitaciones de un programa nacional. Aunque se carece de pruebas producidas por un estudio formal de métodos en colaboración o realizado por varios laboratorios, el funcionamiento del método ha sido demostrado por medio de su uso exitoso y por datos de control de calidad en uno o más laboratorios al paso del tiempo.

La mayoría de los laboratorios reglamentarios dependen del uso de métodos para residuos de medicamentos veterinarios que no han sido objeto de un estudio realizado por varios laboratorios. Los factores que han contribuido a esta situación incluyen un requisito de experiencia o equipo especializado, el costo de tales estudios, la carencia de laboratorios adecuados para la colaboración, la inestabilidad del analito, de la muestra, o de ambos, y las tecnologías que cambian con mucha rapidez. A pesar de que por muchos años el centro de atención en la equivalencia de los resultados analíticos estaba fundamentado en el uso de métodos normalizados que tenían características funcionales definidas basadas en estudios en colaboración, hoy en día los laboratorios acreditados operan en un entorno donde es la responsabilidad del laboratorio individual el demostrar que los métodos utilizados y los resultados analíticos producidos cumplen con los criterios funcionales establecidos en colaboración con el cliente. En la ausencia de métodos validados por estudios interlaboratorios de métodos, los laboratorios reglamentarios deben utilizar, con frecuencia, métodos de análisis que han sido objeto de estudios realizados dentro de sus propios laboratorios para caracterizar el funcionamiento del método.

15.4. Validación realizada por un solo laboratorio – El enfoque por criterios

La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (UIQPA) publicó, como informe técnico, un documento de orientación sobre la validación de métodos realizada por un solo laboratorio, las "Directrices armonizadas para la validación de métodos de análisis realizada por un solo laboratorio"⁶. El Manual de Procedimiento del Codex⁷ reconoce que no siempre se dispone de métodos validados por estudios interlaboratorios o que estos métodos no siempre son aplicables, especialmente en el caso de métodos para analitos o substratos múltiples o en el caso de nuevos analitos. En tales casos, los métodos pueden ser validados por un solo laboratorio siempre que se cumpla con los Criterios Generales para la Selección de Métodos de Análisis, así como también con los siguientes criterios adicionales:

- (a) que el método se haya validado de conformidad con un protocolo reconocido internacionalmente (como por ejemplo, las Directrices armonizadas de la UIQPA para la validación de métodos de análisis realizada por un solo laboratorio, cuya referencia se mencionó anteriormente);
- (b) que el uso del método esté incorporado en un sistema de gestión de calidad, de conformidad con la Norma ISO/IEC 17025 (2005) o con los principios de Buenas prácticas de laboratorio;

⁶ Thompson, M., Ellison, S.L.R. & Wood, R. (2002) Harmonized Guidelines for Single-Laboratory Validation of Methods of Analysis. *Pure and Applied Chemistry* **74**: 835-855.

⁷ FAO/OMS. Manual de Procedimiento de la Comisión del Codex Alimentarius.

- (c) el método debería complementarse con información sobre la exactitud demostrada, por ejemplo, mediante:
- la participación regular en planes de pruebas de competencia, cuando se disponga de ellos;
 - calibraciones en las que se utilicen materiales de referencia certificados, cuando proceda;
 - estudios de recuperación realizados en la concentración prevista de los analitos;
 - la verificación de los resultados mediante otros métodos validados, cuando se disponga de ellos.

Algunas autoridades reglamentarias han adoptado el enfoque por criterios, que combina el modelo de la validación realizada por un solo laboratorio con el requisito de que los métodos deben cumplir con especificaciones funcionales específicas.

Características de los métodos de análisis de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos

16. INTRODUCCIÓN

Las características funcionales de los métodos de análisis utilizadas para determinar el cumplimiento con los LMRMV deben definirse, y los métodos propuestos deben evaluarse en consecuencia. Esto asegurará la obtención de resultados analíticos fiables y proporcionará una base segura para determinar los residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos para productos en el comercio internacional. En el capítulo anterior, "*Consideraciones generales sobre los métodos de análisis para el control de residuos*", se presenta un debate de los tipos o categorías generales de métodos reglamentarios, y se proporciona un plan para utilizar estos métodos de análisis tomando como base su uso previsto en un marco reglamentario. En el siguiente debate, se presentan las características que son comunes a las tres categorías de métodos (citadas como métodos de confirmación, cuantitativos y de selección) para determinar el cumplimiento con los LMRMV. También se debaten las características adicionales que son solamente aplicables a una o dos de las categorías de métodos.

17. CONSIDERACIONES RELATIVAS A LA ELABORACIÓN DE MÉTODOS

La elaboración de un método de análisis requiere analistas con experiencia en las técnicas de análisis a utilizarse, así como también espacio adecuado en el laboratorio, equipo y apoyo económico. Antes de iniciar las actividades de la elaboración del método, se debería determinar el uso previsto y la necesidad de un método en un programa de control de residuos, incluidos los parámetros funcionales requeridos. Otras consideraciones incluyen el ámbito de aplicación requerido del método (compuesto o clase de compuestos de interés y tipos de materiales de muestra), las sustancias que posiblemente puedan causar interferencia, las características funcionales requeridas del sistema de medición, las propiedades físicas y químicas pertinentes que puedan influir en el funcionamiento del método, la especificidad del sistema de pruebas deseado y cómo será determinada, datos sobre la estabilidad del analito y del reactivo y la pureza de los reactivos, las condiciones de operación aceptables para cumplir con los factores funcionales del método, las directrices para la preparación de la muestra, los factores ambientales que pudieran influir en el funcionamiento del método, consideraciones de seguridad y cualquier otra información específica pertinente a las necesidades del programa. En particular, se debería evaluar la estabilidad de los patrones, tanto en condiciones normales de almacenamiento y uso como durante el procesamiento de las muestras. La estabilidad del analito en las muestras durante las condiciones típicas de almacenamiento de las muestras antes del análisis también debería ser determinada, entre ellas, cualquier período durante el cual una muestra pueda ser retenida en espera de un posible reanálisis para efectos de confirmación.

El establecimiento de las características funcionales del método es esencial, puesto que éstas proporcionan la información necesaria para las agencias de inocuidad alimentaria para elaborar y gestionar sus programas de salud pública. Las características funcionales de los métodos de análisis también proporcionan una base para tomar buenas decisiones de gestión en futuras planeaciones, evaluaciones y en la disposición de productos. Para la industria de asistencia sanitaria animal, éstas proporcionan directrices para saber exactamente qué funcionamiento debe lograrse en la elaboración de procedimientos de análisis. Todos se beneficiarán del hecho de que el método de análisis tenga factores funcionales bien definidos. Los requisitos funcionales del método variarán dependiendo de si el método se utiliza para la selección, la cuantificación o la confirmación de un residuo para el cual se han establecido límites máximos de residuos, o para residuos de un medicamento para el que no se

ha recomendado una IDA ni LMRMV. En el último caso, las autoridades competentes podrían establecer una norma de funcionamiento mínimo que los métodos utilizados para efectos de control reglamentario deben cumplir. No obstante, cuando no se han establecido concentraciones inocuas de estos compuestos en los alimentos, las autoridades competentes podrían revisar tales límites periódicamente para asegurar que reflejen mejoras en la tecnología y la capacidad analítica. Cuando dichos límites no han sido establecidos oficialmente por las autoridades competentes, éstos son habitualmente establecidos, de hecho, por las capacidades de detección de los métodos utilizados en los laboratorios reglamentarios.

18. CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES ANALÍTICAS

18.1. Características funcionales de los métodos de selección

Los métodos de selección son habitualmente de carácter cualitativo o semicuantitativo y tienen como objetivo distinguir las muestras que no contienen residuos detectables por encima de un valor límite (“muestras negativas”) de aquellas que pudieran contener residuos que sobrepasen ese valor (“muestras positivas”). La estrategia de validación, por lo tanto, se enfoca en el establecimiento de una concentración límite arriba de la cual los resultados son “positivos”, la determinación de un índice estadísticamente fundamentado para resultados tanto “positivos falsos” como “negativos falsos”, la evaluación de interferencias y el establecimiento de las condiciones de uso adecuadas.

En el caso de una prueba de selección, particularmente en aquellas en las que se utilizan *tecnologías* de equipo de ensayo, el término “*sensibilidad*” se refiere a la concentración más baja en la que se puede detectar con fiabilidad un analito elegido como objetivo dentro de límites estadísticos definidos. En el AOAC *Performance Tested Program*TM para equipos de ensayos, esto se determina experimentalmente al evaluar un mínimo de 30 materiales de muestra exentos de residuos, fortificados con el analito en la concentración elegida como objetivo. Los materiales de muestra deberían provenir por lo menos de seis fuentes diferentes (es decir, por lo menos 5 duplicados de cada una de por lo menos 6 fuentes), y todos ellos deberían producir un resultado positivo cuando estén fortificados en la concentración elegida como objetivo. Tres o más resultados negativos constituyen una falla de la prueba de sensibilidad. Si uno o dos de los resultados son negativos, el experimento debería repetirse, y dos resultados negativos constituirían entonces una falla. Se debería repetir el experimento con material conocido dosificado en la concentración elegida como objetivo, si dicho material se encontrara disponible.

La “*selectividad*” de un método de selección se refiere a la capacidad de la prueba para determinar que las muestras que resultan en una respuesta negativa son, de hecho, negativas. La prueba también debe tener la capacidad de distinguir la presencia del compuesto o grupo de compuestos elegido como objetivo, de otras sustancias que pudieran estar presentes en el material de muestra. Ésta no es normalmente tan grande como aquella de un método cuantitativo, porque los métodos de selección con frecuencia aprovechan alguna característica estructural que es común a un grupo o clase de compuestos. Estos métodos, que generalmente corresponden a la categoría de métodos de selección, están frecuentemente fundamentados en la inhibición del crecimiento microbiológico, inmunoensayos o respuestas cromógenas que quizás no identificarían claramente a un compuesto. La selectividad de un método de selección podría incrementarse cuando se utiliza como un sistema de detección después de aplicar una técnica cromatográfica o alguna otra técnica de separación. Para demostrar una tasa de selectividad de por lo menos el 90% con un nivel de confianza del 95% (lo cual se recomienda para las pruebas de selección), se realizan 30 análisis repetidos en materiales representativos de matriz de muestra en blanco de un mínimo de seis fuentes distintas. Todos los resultados deberían ser negativos. Entonces se podrían realizar pruebas adicionales para detectar posibles interferencias y reactividad cruzada al evaluar material de matriz en blanco fortificado con sustancias que tienen posibilidades de causar interferencia, tales como otros medicamentos que pudieran utilizarse en el tratamiento de animales, posibles contaminantes ambientales, metabolitos de medicamentos o compuestos químicos afines. Nuevamente, estas respuestas deberían ser negativas cuando estos compuestos estén presentes en concentraciones que pudieran ser razonablemente previstas en una muestra.

El “límite” o umbral para la prueba de un compuesto específico se establece al realizar experimentos de concentración y respuesta, utilizando típicamente 30 duplicados (de por lo menos seis fuentes) fortificados en cada una de una serie de concentraciones cada vez mayores. Una vez que se han establecido las concentraciones donde los 30 duplicados dan una respuesta negativa y los 30 duplicados dan una respuesta positiva, el experimento se repite utilizando los materiales de matriz en blanco fortificados en cuatro concentraciones separadas a intervalos uniformes entre las concentraciones que dieron “todas las respuestas negativas” y “todas las respuestas positivas”. Un

grupo adicional se analiza a una concentración 20% superior a la concentración que dio “todas las respuestas positivas”. El análisis estadístico de los resultados permite al usuario establecer una detección fiable de la concentración en el nivel de confianza requerido (usualmente del 95%)⁸.

18.2. Características funcionales de los métodos cuantitativos

La *selectividad* es la capacidad de un método de análisis de detectar y distinguir la respuesta de la señal de un compuesto en la presencia de otros compuestos que pudieran estar presentes en el material de muestra; es de particular importancia en la definición de las características funcionales de los métodos utilizados en los programas de control reglamentario para los residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos. Hay dos aspectos que deben tomarse en consideración, la capacidad del método de proporcionar una respuesta de señal que esté exenta de interferencias de otros compuestos que pudieran estar presentes en una muestra o extracto de muestra, y la capacidad del método de identificar sin lugar a duda la respuesta de una señal como una respuesta exclusivamente relacionada con un compuesto específico. Para un método cuantitativo, el requisito es que la señal utilizada para la cuantificación debería estar relacionada solamente con el analito elegido como objetivo y no contener contribuciones para los materiales coextraídos. Los análisis cromatográficos basados en picos que no tienen una buena resolución proporcionan resultados cuantitativos menos fiables. El uso de detectores para elementos específicos, longitudes de onda de detección o detectores selectivos de masas que son más específicos a un compuesto o estructura particular, junto con la separación cromatográfica, mejoran la selectividad de los métodos cuantitativos para el análisis de los residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos.

Además de la selectividad de un método, también se debe demostrar la capacidad del método para proporcionar un resultado cuantitativo que es fiable. Esto consiste en dos factores:

- el grado de coincidencia entre el resultado y el valor verdadero o aceptado de la concentración del analito presente en el material de muestra, expresado como *exactitud*, *veracidad* o *sesgo*; y
- la capacidad del método para proporcionar resultados con alto grado de coincidencia en determinaciones independientes (duplicados), expresada como *precisión* (*repetibilidad* y *reproducibilidad*).

Se recomienda que los métodos utilizados para respaldar los LMRMV del Codex deberían cumplir con los valores normalizados especificados para la veracidad y la precisión enumerados en la Tabla 1, donde CVA se refiere al coeficiente de variación determinado por las porciones de ensayo de matriz en blanco fortificada antes de la extracción y CVL es la variabilidad del laboratorio en general que incluye una estimación del 10% para la variabilidad del procesamiento de la muestra⁹.

Tabla 1. Criterios funcionales a los que deberían ajustarse los métodos considerados adecuados para utilizarse como métodos de análisis cuantitativos para respaldar a los LMRMV para residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos¹⁰

Concentración µg/kg	Coeficiente de variación (CV)				Veracidad
	Repetibilidad (dentro del laboratorio, CV _A) %	Repetibilidad (dentro del laboratorio, CV _L) %	Reproducibilidad (entre laboratorios, CV _A) %	Reproducibilidad (entre laboratorios, CV _L) %	Escala de porcentajes medios de recuperación
≤ 1	35	36	53	54	50-120
1 a 10	30	32	45	46	60-120
10 a 100	20	22	32	34	70-120
100 a 1000	15	18	23	25	70-110
≥ 1000	10	14	16	19	70-110

⁸ Finney, D.J. (1978) *Statistical Method in Biological Assay*, 3rd edition. MacMillan Publishing Co., New York.

⁹ Fajgelj A., Ambrus A., eds. (2000) *Principles of Method Validation*, Royal Society of Chemistry, Cambridge UK.

¹⁰ CAC/GL 37-2001 *Harmonized IUPAC Guidelines for the use of Recovery Information in Analytical Measurement*; see also Thompson, M., Ellison, S., Fajgelj, A., Willetts, P., & Wood, R. (1999) *Harmonised Guidelines for the Use of Recovery Information in Analytical Measurement*, *Pure Applied Chemistry*, **71**: 337-348.

La *exactitud* de un método podría determinarse mediante el análisis de un material de referencia certificado, al comparar los resultados con aquellos obtenidos con otro método para el que los parámetros funcionales han sido rigurosamente establecidos con anterioridad (típicamente, un método de estudio en colaboración) o, en la ausencia de materiales de referencia o de métodos validados por un estudio interlaboratorios, mediante la determinación de la recuperación de un analito fortificado en un material de muestra en blanco conocido. La determinación de la exactitud como recuperación se utiliza frecuentemente en la validación de métodos para residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos, debido a que tanto los materiales de referencia certificados como los métodos validados por un estudio interlaboratorios no están frecuentemente disponibles. La exactitud de una medición está estrechamente relacionada con el *error sistemático* (sesgo del método de análisis) y con la recuperación del analito (medida como un porcentaje de recuperación). Los requisitos de los métodos en materia de exactitud variarán según el uso reglamentario previsto de los resultados. La exactitud debería ser detenidamente caracterizada a concentraciones próximas al LMRMV o a la concentración elegida como objetivo para los efectos de las medidas reglamentarias (típicamente a concentraciones de 0.5 a 2.0 veces la concentración elegida como objetivo) para asegurar que la medida reglamentaria se aplique solamente a las muestras que contienen residuos que sobrepasan el límite impuesto por la medida reglamentaria cuando esto puede demostrarse con una confianza estadística definida.

La *recuperación* se expresa habitualmente como el porcentaje del analito determinado experimentalmente después de la fortificación del material de muestra a una concentración conocida y debería evaluarse a lo largo de concentraciones que cubren la escala analítica del método. En la interpretación de recuperaciones, es necesario reconocer que es posible que el analito añadido a una muestra no se comporte de la misma manera que el mismo analito dosificado o acumulado biológicamente (residuo de medicamento veterinario). En muchas situaciones, la cantidad de un residuo dosificado o acumulado que es extraído (el producto o la fracción recuperada) es menor que la cantidad total de residuos dosificados o acumulados que se encuentra presente. Esto podría ser el resultado de pérdidas que ocurren durante la extracción, la unión intracelular de los residuos, la presencia de conjugados u otros factores que no son totalmente representados por los experimentos de recuperación realizados con los tejidos en blanco fortificados con el analito. A concentraciones relativamente altas, se prevé que las recuperaciones analíticas se aproximen a un cien por ciento. A concentraciones menores, particularmente con métodos que incluyan extracción, aislamiento y pasos de concentración considerables, las recuperaciones podrían ser menores. Independientemente de cuál sea el promedio de recuperación observado, se desea la recuperación con una variabilidad baja, de manera que se pueda hacer una corrección fiable correspondiente a la recuperación para el resultado final, cuando sea necesario. Las correcciones de recuperación deberían aplicarse de conformidad con los criterios establecidos en la orientación proporcionada por la Comisión del Codex Alimentarius¹⁰.

La *precisión*, que cuantifica la variación entre las mediciones duplicadas de las porciones de ensayo del mismo material de muestra, es también una consideración importante para determinar cuándo se considera que el residuo en una muestra sobrepasa un LMRMV o algún otro límite impuesto por las medidas reglamentarias. La precisión de un método suele expresarse en función de la variación intralaboratorio (*repetibilidad*) y la variabilidad interlaboratorio (*reproducibilidad*) cuando el método ha sido sometido a un estudio realizado por varios laboratorios. Para la validación de un método realizada por un solo laboratorio, se debería determinar la precisión a partir de experimentos realizados en días diferentes, utilizando un mínimo de seis grupos de tejidos diferentes, lotes de reactivos diferentes, de preferencia con diferente equipo, etc., y, de preferencia, por analistas diferentes. La precisión de un método suele expresarse como la desviación estándar. Otro término útil es la desviación estándar relativa o el coeficiente de variación (la desviación estándar, dividida entre el valor absoluto de la media aritmética). Puede ser expresada como un porcentaje al multiplicar la magnitud por cien.

La variabilidad del método lograda en un laboratorio que está elaborando un método, es habitualmente menor que la variabilidad lograda por otros laboratorios que podrían utilizar el método después. Si el método no puede lograr un estándar adecuado de funcionamiento en el laboratorio donde se elaboró, no se puede esperar que funcione mejor en otros laboratorios.

Por lo general, los métodos cuantitativos están fundamentados en una comparación de la respuesta de un analito en una muestra frente a la respuesta de patrones del analito en solución a concentraciones conocidas. En la elaboración y la validación del método, primero se debería determinar la curva de calibración para evaluar la respuesta del detector a patrones a lo largo de una escala de concentraciones. Estas concentraciones (un mínimo de cinco, más el blanco) deberían abarcar la escala de interés analítico completa, y la curva resultante debería expresarse estadísticamente. Sin embargo, aunque la inclusión de un blanco adecuado con las muestras de

calibración es una práctica recomendada, esto no implica que sea aceptable aplicar extrapolaciones en la región de la curva inferior al patrón más bajo, para obtener un resultado cuantitativo. La función analítica relaciona la respuesta para el analito recuperado del material de muestra en varias concentraciones a lo largo de la escala de interés analítico. Para los analitos para los que se ha establecido un LMRMV o un límite de medidas reglamentarias en un material de muestra particular (matriz), la respuesta es típicamente determinada para un blanco conocido del material de muestra y para un blanco del material de muestra fortificado en una escala de concentraciones superiores e inferiores al LMRMV (se recomienda el uso de 6 distintas fuentes de materiales de blancos).

Los datos del experimento de la función analítica también pueden ser utilizados para calcular la recuperación analítica en cada concentración y son de particular importancia cuando la presencia de coextractantes de la matriz modifica la respuesta del analito en comparación con los patrones analíticos. La *linealidad* se determina a partir de los experimentos de la función analítica y es la expresión estadística de la curva obtenida para el análisis de los materiales de muestra fortificados en las concentraciones elegidas como objetivo. Se determina típicamente de un análisis de regresión lineal de los datos, suponiendo que hay una respuesta lineal. Es cada vez más común en los métodos de análisis para residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos, el basar la determinación cuantitativa en una curva estándar preparada mediante la adición de un patrón a un blanco conocido del material representativo de la matriz, en una escala de concentraciones adecuadas que abarcan el valor elegido como objetivo (la función analítica). El uso de una “curva estándar de tejidos” de tal índole para la calibración incorpora una corrección de la recuperación en los resultados analíticos obtenidos.

También es necesario establecer los límites inferiores en los que la detección, cuantificación o confirmación fiable de la presencia de un analito pueda realizarse utilizando un método de análisis en particular. El *límite de detección* puede describirse en términos prácticos como la concentración más baja donde el analito puede identificarse en una muestra. Puede estimarse utilizando la desviación estándar ($s_{y/x}$) del análisis de regresión lineal de la curva estándar generada en el experimento de la función analítica descrito anteriormente¹¹. Con el uso de este enfoque, el límite de detección se calcula utilizando la ordenada en el origen (suponiendo un valor positivo) de la curva más tres veces el valor de $s_{y/x}$. Este enfoque proporciona una estimación moderada del límite de detección. El límite de detección también puede estimarse mediante mediciones en materiales de ensayo representativos como la respuesta relevante más débil del analito en el blanco más tres veces su desviación estándar. Con frecuencia, es necesario dosificar los materiales de ensayo a una concentración que resulta en una respuesta apenas detectable para obtener una aproximación de la desviación estándar del blanco cuando se utiliza este enfoque.

El *límite de cuantificación* (LC), puede establecerse a partir de los mismos experimentos utilizando la ordenada en el origen de la curva más diez veces el valor de $s_{y/x}$. En el caso de los métodos utilizados para respaldar los LMRMV establecidos por la Comisión del Codex Alimentarius, el límite de cuantificación debería cumplir con los criterios de precisión y exactitud (recuperación) en la Tabla 1 y debería ser igual o menor que la mitad del valor del LMRMV. Sin embargo, cuando el límite de cuantificación de un método es menor que las concentraciones reales vigiladas para determinar el cumplimiento con un LMRMV, la validación y la aplicación ulterior del método deberían basarse en el *nivel calibrado más bajo* (NCMB), que es típicamente 0.5 veces el valor del LMRMV. Para los efectos de un programa reglamentario, los límites de detección y de cuantificación son parámetros importantes cuando el método será aplicado para estimar exposiciones a residuos, donde pudiera haber un interés en la vigilancia de residuos a concentraciones inferiores al LMRMV, o cuando se aplican análisis de residuos para sustancias para las que no hay IDA ni LMRMV establecidos. Para la vigilancia del cumplimiento con un LMRMV, es importante que se incluya en el análisis un NCMB, que demuestre adecuadamente que la concentración del LMR puede ser fiablemente determinada. El NCMB de un método utilizado para respaldar un LMRMV no debería ser menor al LC. El Manual de Procedimiento del Codex recomienda el término *límite de determinación* en la sección de “Términos que han de utilizarse en el enfoque por criterios”⁷.

18.3. Características funcionales de los métodos de confirmación

La *selectividad*, la capacidad del método de identificar inequívocamente una señal de respuesta como exclusivamente relacionada con un compuesto específico, es la consideración primaria en los métodos de confirmación. Ciertas técnicas instrumentales, tales como la espectroscopia por rayos infrarrojos de Fourier o la espectrometría de masas, pueden ser lo suficientemente selectivas como para ofrecer una identificación inequívoca. Éstas son frecuentemente las técnicas en las que se basan los métodos de confirmación.

¹¹ Miller, J.C., & Miller, J.N. (1993) Statistics for Analytical Chemistry, 3rd Edition, Ellis Horwood Ltd., Chichester.

Por lo general, se requiere un mínimo de cuatro puntos de identificación para cumplir con los criterios funcionales aceptados para los métodos reglamentarios. Se considera que los métodos fundamentados en la espectrometría de masas de alta resolución dan una fiabilidad mayor por medio de mediciones de masa más precisas que la que puede obtenerse utilizando técnicas de espectrometría de masas de baja resolución. Los requisitos funcionales del método para los métodos de confirmación fundamentados en CG/EM y CL/EM de baja resolución, según su reciente publicación por un órgano internacional de expertos¹², se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2: Requisitos funcionales para fuerzas iónicas relativas (muestra comparada contra un patrón) utilizando varias técnicas de análisis de espectrometría de masas.⁹

Fuerza iónica relativa (% del pico base)	CG-EM (IE) (relativa)	CG-EM (IQ), CG-EM/EM CL-EM, CL-EM/EM (relativa)
>50%	≤10%	≤20%
20% a 50%	≤15%	≤25%
10% a 20%	≤20%	≤30%

Se considera que se debería asignar un punto de identificación a cada fragmento iónico estructuralmente importante detectado por medio de un método de espectrometría de masas de baja resolución. Cuando se utiliza un instrumento en serie de baja resolución, tal como un espectrómetro de masas de "triple cuadrípolo", los fragmentos secundarios se detectan a partir de un fragmento primario aislado en la primera fase del espectrómetro. El hecho de que estos fragmentos estructuralmente importantes se produzcan a partir de la fragmentación de un fragmento principal (ión original o precursor) relacionado con la molécula proporciona un nivel de confianza mayor, y a cada ión secundario o derivado se le asigna un valor de 1.5 puntos de identificación. El conjunto de un ión precursor y de dos iones derivados proporciona los 4 puntos de identificación necesarios cuando se utilizan instrumentos de EM/EM de baja resolución en un método de confirmación.

Un nivel de confianza adicional se proporciona cuando se utilizan los espectrómetros de masas de alta resolución en un método de confirmación, puesto que la alta resolución proporciona una identificación más precisa de la masa y puede utilizarse para predecir la composición elemental de cada fragmento. En el caso de un solo espectrómetro de masas de alta resolución, a cada fragmento estructuralmente importante detectado se le asigna un valor de dos puntos de identificación, mientras que a los iones derivados que se generan en los experimentos de EM/EM de alta resolución se les asigna un punto de identificación con un valor de 2.5 cada uno. Además, se debe medir por lo menos un índice iónico para eliminar la posibilidad de fragmentos de la misma masa que surjan de compuestos isobáricos con una estructura análoga.

Otras técnicas, utilizadas conjuntamente, pueden ser capaces de lograr un grado de selectividad análogo al de las técnicas de confirmación. Por ejemplo, la identificación podría verificarse mediante el uso de una combinación de los siguientes métodos:

- (a) la cromatografía en capa fina;
- (b) la cromatografía gas-líquido y específica para un elemento y sistemas de detección que la acompañan;
- (c) la formación de derivados característicos seguida de una cromatografía adicional; o
- (d) la determinación de los tiempos relativos de retención específicos del compuesto utilizando diversos sistemas cromatográficos de diferente polaridad.

Tales procedimientos deben ser aplicables al LMRMV designado para el analito. Cuando no se dispone de un método de confirmación tal como la espectrometría de masas, la información sobre la selectividad relacionada con el análisis de un residuo específico de medicamentos veterinarios en una muestra puede obtenerse de varias fuentes¹³. Esta información puede capturarse en un documento de registro estructurado de toda la información que conduce a la conclusión de que un método ha

¹² Bethem, R., Boison, J.O., Gale, J., Heller, D., Lehotay, S., Loo, J., Musser, S., Price, P., and Stein, S. (2003) Establishing the Fitness for Purpose of Mass Spectrometric methods. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 14, 528-541.

¹³ Stephany, R.W. (2003). SPECLOG – The Specificity Log. CRD-9, Comité del Codex sobre Residuos de Medicamentos Veterinarios en los Alimentos, 14ª reunión, celebrada en Arlington, VA., EE.UU., del 4 al 7 de marzo.

detectado un compuesto específico en una muestra, en una concentración medida como se informó. A pesar de que no hay una sola medición o análisis que pueda proporcionar la prueba inequívoca de la identidad de un compuesto y/o la cantidad presente que se desea, la información combinada que ha sido reunida proporciona pruebas de que el analista ha realizado un esfuerzo serio para llegar a un resultado lógico y coherente con los datos y con otra información disponible. En la Tabla 3 se resumen algunos ejemplos de técnicas de análisis que pudieran ser adecuadas para satisfacer los criterios para los métodos de análisis de confirmación.

Tabla 3. Ejemplos de métodos de detección adecuados para el análisis de sustancias para efectos de confirmación, según fueron recomendados por la Consulta de Miskolc⁹

Método de detección	Criterio
CL o CG y espectrometría de masas	Si se controla un número suficiente de fragmentos iónicos
CL-DAD	Si el espectro ultravioleta es característico
CL- fluorescencia	Junto con otras técnicas
2-D Cromatografía en capa fina – (espectrometría)	Junto con otras técnicas
Cromatografía de gases con detección por captura de electrones, Detector de nitrógeno y fósforo, Detector fotométrico de flama	Sólo cuando se combina con dos o más técnicas de separación ^a
Derivación	En caso de que no haya sido el primer método elegido
CL-inmunograma	Junto con otras técnicas
CL-UV/VIS (longitud de onda única)	Junto con otras técnicas

^a Otros sistemas cromatográficos (en los que se apliquen fases estacionarias y/o móviles de selectividad diferente) u otras técnicas.

Aunque los métodos de confirmación son generalmente procedimientos instrumentales, la observación de un cambio patológico o de otro cambio morfológico que identifique específicamente la exposición a una clase de medicamentos veterinarios, podría ser potencialmente un método de confirmación, si cuenta con la suficiente sensibilidad y precisión.

18.4. Características funcionales generales para los métodos a utilizarse en un programa de control reglamentario

Hay algunas consideraciones adicionales para la selección de métodos adecuados a utilizarse en un programa de control reglamentario para los residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos. Los métodos deberían ser resistentes (robustos), eficaces en función de los costos, relativamente sencillos, transportables y capaces de manejar simultáneamente un conjunto de muestras de modo eficaz en función del tiempo. También se debe determinar la estabilidad de los analitos.

La prueba de *rigurosidad* debería realizarse utilizando el enfoque del diseño factorial estándar para determinar cualquier punto crítico de control¹⁴. Los factores típicos a incluirse en un diseño incluyen variaciones en los volúmenes o concentraciones de los reactivos, pH, tiempo y temperatura de incubación o de reacción, calidad de los reactivos y distintos lotes o fuentes de un reactivo o material cromatográfico. Podría ser necesario aplicar la prueba de rigurosidad a un método de confirmación si el método difiere considerablemente del método cuantitativo previamente validado (si el método utiliza distintos procedimientos de extracción o de derivación de aquellos que se utilizan en el método cuantitativo).

La *eficacia en función del costo* se refiere al uso de reactivos e insumos que pueden conseguirse fácilmente de los proveedores locales en la pureza requerida y al equipo cuyas partes y servicio también pueden conseguirse fácilmente. La *eficacia del método* aumenta cuando se pueden analizar varias muestras al mismo tiempo. Esta característica reduce el tiempo necesario para el análisis de una muestra y habitualmente reduce el costo por muestra, debido a que hay ciertos costos fijos relacionados con el análisis de muestras, independientemente de si se trata de una o varias muestras. La capacidad de un método de abarcar múltiples muestras en un lote es importante cuando se deben analizar grandes números de muestras en marcos cortos o fijos de tiempo. La *transportabilidad* es la característica del método de análisis que le permite ser trasladado de un lugar a otro sin perder las características analíticas funcionales establecidas.

¹⁴ Youden, W.J., & Steiner, E.H. (1975) *Statistical Manual of the Association of Official Analytical Chemists*, AOAC International, Gaithersburg, VA.

La *estabilidad del analito* durante el análisis debe establecerse tanto para los patrones como para el analito en la presencia del material de muestra, durante el procesamiento a lo largo del análisis total para todos los métodos utilizados en un programa de control reglamentario y para las condiciones típicas de almacenamiento mientras una muestra está en espera de análisis. El período elegido de estabilidad durante el almacenamiento debería cubrir el tiempo previsto para el almacenamiento del material de muestra relativo a todos los análisis necesarios, que incluyen el uso de los métodos de selección, los métodos cuantitativos y los métodos de confirmación. Es prudente realizar el estudio de almacenamiento para un período que se extienda por lo menos 90 días más allá del tiempo previsto para la conclusión de todos los análisis de selección, cuantitativos y de confirmación y para el informe de los resultados en caso de que éstos se cuestionen y se solicite un reanálisis.

19. CONSIDERACIONES RELATIVAS A LA ELABORACIÓN Y LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS PARA EL CONTROL DE RESIDUOS

19.1. Selección del material de ensayo adecuado para la validación

Los laboratorios deben demostrar que los métodos utilizados para el análisis de muestras reglamentarias han sido debidamente validados. Tradicionalmente, el estudio de validación de un método realizado por varios laboratorios ha sido el enfoque preferido para proporcionar datos analíticos a fin de definir las características funcionales de un método. Sin embargo, se han elaborado otros modelos que incluyen estudios realizados por varios laboratorios en los que participa un número menor de laboratorios que el requerido para realizar un estudio en colaboración total y la validación realizada por un solo laboratorio fundamentada en evaluaciones rigurosas del funcionamiento del método realizadas dentro del laboratorio, respaldadas por un sistema de gestión de calidad, auditorías independientes y análisis de competencia o materiales de referencia, cuando se dispone de ellos.

En la elaboración y la validación de un método de control de residuos, se deberían recoger datos provenientes de tres tipos de materiales de muestra. El material de ensayo de control proveniente de animales que no han sido sometidos a tratamiento proporciona información analítica de fondo y sobre interferencias de la matriz. El material de ensayo fortificado, que contiene cantidades conocidas del analito añadido al material de control, proporciona información sobre la capacidad del método para recuperar el analito de interés en condiciones reguladas. Los tejidos deberían obtenerse de múltiples fuentes para cubrir las variaciones que resultan de factores tales como distintos regímenes alimenticios, prácticas pecuarias, sexo y raza de los animales. Se recomienda un mínimo de seis fuentes de materiales distintas.

En algunos casos, es posible que no haya materiales de muestra conocidos que estén exentos del medicamento para utilizarse en los laboratorios de control de residuos. En estos casos, se puede utilizar un material de muestra equivalente. Los materiales de muestra equivalentes pueden consistir ya sea en la misma matriz que la matriz de la muestra de ensayo de una fuente desconocida, o en una matriz diferente de una fuente conocida exenta de medicamento que es muy semejante a la matriz de la muestra. En todos los casos, el laboratorio de control de residuos debe demostrar que el material de muestra equivalente está exento de interferencias del medicamento y que exhibe una recuperación satisfactoria de las muestras fortificadas. Además, cuando se utiliza un material de una fuente desconocida para los métodos cuantitativos o de selección, se recomienda que se utilice un segundo método para demostrar que la matriz no contiene residuos del medicamento. Es la responsabilidad del laboratorio de control de residuos demostrar la idoneidad del material de muestra equivalente para la finalidad requerida.

Por último, el análisis del tejido con residuos dosificados o acumulados biológicamente, provenientes de animales destinados a la producción de alimentos que han sido tratados con el medicamento, proporciona información sobre las interacciones biológicas o de otra índole que pueden producirse cuando se analizan las muestras para el control de residuos.

19.2. Incertidumbre de la medición

Los laboratorios deberían proporcionar a sus clientes, previa solicitud, información sobre la incertidumbre de la medición o la declaración de confianza relacionada con los resultados cuantitativos producidos por cada método cuantitativo. La UIQPA está elaborando una guía sobre la estimación de la incertidumbre de la medición y otros órganos científicos independientes han publicado guías afines.¹⁵

¹⁵EURACHEM/CITAC Guide to Quantifying Measurement Uncertainty in Analytical Measurement, <http://www.measurementuncertainty.org/mu/guide/index.html>, página consultada el 18 de septiembre de 2007.

19.3. Uso de patrones internos

En algunas ocasiones, los métodos para residuos son diseñados utilizando patrones internos para el control analítico. Un patrón interno debidamente utilizado compensará parte de la variabilidad analítica de un análisis, mejorando de esta manera la precisión. Sin embargo, un patrón interno utilizado indebidamente puede ocultar variables que son una parte importante de la medición analítica. Si se utiliza un patrón interno, éste debería ser añadido a una muestra lo antes posible en las etapas iniciales del procedimiento, de preferencia, al material de ensayo antes de que comience el análisis. El patrón interno debe reflejar la recuperación del analito elegido como objetivo de una manera uniforme y previsible. Un patrón interno que no refleje el comportamiento del analito elegido como objetivo en el método conllevará errores significativos en el cálculo del resultado final. Se debe tener cuidado al elegir los patrones internos a fin de asegurar que éstos no alteren el porcentaje de recuperación del analito de interés o que interfieran con el proceso de medición. Es importante conocer el grado y la previsión de los efectos de un patrón interno sobre un método de análisis. Los patrones internos pueden mejorar grandemente el funcionamiento del método cuando se utilizan correctamente.

19.4. Consideraciones ambientales

Si es posible que los métodos para el control de residuos se sometan a condiciones físicas ambientales de ensayo sumamente variables, esto debería tomarse en cuenta en la elaboración y la validación de los mismos. El abordar estas cuestiones podría ayudar a mejorar la rigurosidad del método. Los ambientes más cálidos podrían requerir que los reactivos sean térmicamente más estables, mientras que los disolventes utilizados en el análisis tendrán que ser menos volátiles, y los requisitos relativos a las muestras objeto de ensayo tendrán que ser más tolerantes. Los ambientes más fríos podrían requerir que los reactivos y los disolventes tengan distintas propiedades físicas, tales como un punto de congelación menor y características de solvatación mayores, para proporcionar la extracción eficaz de un analito. La temperatura del ambiente puede influir en el tiempo necesario para realizar un análisis, así como en la velocidad de reacción, la separación gravitacional y la evolución del color. Estas consideraciones pueden complicar los esfuerzos realizados para normalizar los métodos para que puedan utilizarse en ambientes muy diferentes debido a la necesidad de adaptar métodos para compensar por estos factores. Es importante que al considerar el ambiente físico en el que un método será utilizado se recuerde que los objetos de vidrio aforados y muchos de los instrumentos de análisis son calibrados para utilizarse en temperaturas específicas o dentro de una escala controlada de temperaturas. La operación fuera de estas temperaturas podría comprometer los resultados de la prueba.

19.5. Elección del modelo de validación

Un método de análisis elaborado y utilizado en un solo laboratorio puede tener una utilidad limitada en un programa de control de residuos, a menos que se preste atención para cumplir las rigurosas expectativas para la validación de métodos realizada por un solo laboratorio relacionadas con un programa de acreditación bajo las normas ISO/IEC-17025 o procedimientos de acreditación equivalentes para laboratorios de análisis. La fiabilidad de los valores informados puede ser una preocupación incluso si se pudieran haber empleado firmes procedimientos de control de calidad, a menos que estén respaldados por datos de un programa continuo de competencia, una comparación con un método debidamente validado en un estudio interlaboratorios u otras formas de comparación de resultados entre laboratorios. Lo ideal sería que un método fuera validado por lo menos por tres laboratorios. Debería ser posible que los métodos que han sido cuidadosamente validados en un solo laboratorio, con la inclusión de pruebas de rigurosidad debidamente diseñadas, pudieran ser sometidos con éxito a un estudio en colaboración, en el que participen por lo menos ocho laboratorios diferentes.

Los principios para la validación de un método realizada por un solo laboratorio, para el estudio de un método realizado por varios laboratorios o para un estudio en colaboración de un método de control de residuos, son los mismos. El analista debería desconocer la identidad de las muestras en la evaluación del funcionamiento del método, en duplicaciones al azar, que contengan al residuo cerca del LMRMV o de otra concentración elegida como objetivo, así como las muestras que contengan el analito a un nivel superior e inferior de la concentración de interés, y blancos del material de ensayo. Debería generarse un mínimo de tres conjuntos de datos individuales a lo largo de tres períodos de análisis, por lo menos en tres ocasiones por separado (con por lo menos un día entre una y otra) de preferencia con análisis repetidos, para mejorar la evaluación estadística del funcionamiento del método y proporcionar una estimación de la variabilidad entre días. Debería observarse que éstos son solamente los requisitos mínimos. El establecimiento de normas de funcionamiento para métodos estadísticamente fundamentados se mejora al aumentar el número de analistas y laboratorios

independientes que evalúan el método, así como también el número de muestras analizadas. En la validación realizada por un solo laboratorio, se recomienda que el método sea evaluado por varios analistas para proporcionar medidas adecuadas del funcionamiento dentro del laboratorio. Se recomienda expandir la validación para incluir otros laboratorios, de preferencia a un número de laboratorios necesario para realizar un estudio en colaboración. Los análisis de duplicados con anonimato, según los requisitos del protocolo⁷ de estudio en colaboración en sólo ocho laboratorios, con una o dos especies animales y tejidos, generan estimaciones de calidad limitadas para la repetibilidad y la reproducibilidad generales. La validación de un método estudiado en colaboración puede ser extendida para incluir tejidos y especies adicionales en un estudio ulterior, realizado por un solo laboratorio experto, según sea requerido.

19.6. Sistemas de gestión de calidad

Un sistema de gestión de calidad es un componente esencial del análisis de residuos. Éste vigila los factores relacionados con el análisis de una muestra realizado por un analista y proporciona la supervisión por parte de críticos independientes para asegurar que el programa analítico esté funcionando de manera aceptable. El uso de un sistema acreditado de gestión de calidad es invaluable para respaldar la toma de decisiones de las agencias de control de residuos, mejorando la fiabilidad de los resultados analíticos y proporcionando datos de calidad para los programas de control de residuos, a fin de demostrar la inocuidad de los alimentos para los consumidores, productores y órganos legislativos respecto a los residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos. Se recomienda el establecimiento de medidas de calidad que se rijan por los principios publicados por la UIQPA para los laboratorios de control reglamentario.

Apéndice A**APÉNDICE A. ESTRATEGIAS DE MUESTREO****A1. MUESTREO INSESGADO****A1.1 Propósito**

El muestreo incesgado está diseñado para proporcionar información sobre el perfil, especialmente con respecto al grado de aplicación o funcionamiento de un control o sistema de aseguramiento para una población específica de animales o alimentos a lo largo de un período definido.

A1.2 Consideraciones estadísticas sobre el tamaño de la población de muestreo

El número de muestras para los protocolos de muestreo incesgado debería basarse en la estadística y podría ser influenciado por el tamaño de la población (cuando ésta sea menor a 5000), la frecuencia del incumplimiento determinada a ser significativa, el nivel de confianza a ser otorgado a los resultados, así como también por las consideraciones económicas.

El número de muestras basado en la distribución binomial será siempre igual o mayor que el número de muestras requerido basado en la distribución hipergeométrica¹⁶.

Si el tamaño de la población es pequeño, el efecto del muestreo sin reemplazo es significativo y la distribución del muestreo debería basarse en la distribución hipergeométrica.

En poblaciones con más de 5000 unidades, el efecto del muestreo sin reemplazo es insignificante. Por lo tanto, la distribución binomial puede utilizarse para determinar un número de muestras adecuado.

El número de muestras para un nivel de confianza definido será, de hecho, constante para las poblaciones con más de 5000 unidades.

A1.3 Informe del nivel de confianza del muestreo

Cuando se detectan resultados fuera de cumplimiento, es posible derivar una estimación no refinada de la posible frecuencia en la población en general.

Sin embargo, cuando no se encuentran resultados fuera de cumplimiento, entonces cualquier declaración acerca de la frecuencia necesita expresarse con un nivel de confianza específico de que la frecuencia de los resultados fuera de cumplimiento no sobrepasa un porcentaje específico.

El número de muestras requerido para dar un nivel requerido de aseguramiento estadístico puede obtenerse de la Tabla 4. También pueden utilizarse otros protocolos estadísticos con bases científicas.

Tabla 4: Número de muestras requerido para detectar por lo menos un resultado fuera de cumplimiento con probabilidades predefinidas (90, 95 y 99 por ciento) en una población que tiene una frecuencia de incumplimiento conocida.

Frecuencia de casos fuera de cumplimiento (% en una población)	Mínimo número de muestras requeridas para detectar un resultado fuera de cumplimiento con un nivel de confianza del:		
	90%	95%	99%
35	6	7	11
30	7	9	13
25	9	11	17
20	11	14	21
15	15	19	29
10	22	29	44
5	45	59	90
1	230	299	459
0.5	460	598	919
0.1	2302	2995	4603

La probabilidad de que falle la detección de una frecuencia específica de resultados fuera de cumplimiento relacionada con un mecanismo dirigido específico puede obtenerse de la Tabla 5,

¹⁶ En la teoría de probabilidad y la estadística, la *distribución hipergeométrica* es una distribución de probabilidad discreta (que consiste en distintas partes que no guardan relación entre sí) que describe el número de aciertos en una secuencia de n eventos en una población finita sin reemplazo.

presentada a continuación. Debido a la baja eficacia de los protocolos de muestreo para detectar las bajas frecuencias de incumplimiento, otros mecanismos de aseguramiento son más importantes cuando se prevé una baja frecuencia de incumplimiento.

Tabla 5: Probabilidad de no detectar un resultado fuera de cumplimiento

Frecuencia (%)	Número de animales / unidades de productos en la muestra sometidos a ensayo									
	5	10	25	50	75	100	200	250	500	1000
1	0.951	0.904	0.779	0.605	0.471	0.366	0.134	0.081	0.007	0.000
2	0.904	0.817	0.603	0.364	0.220	0.133	0.018	0.006	0.000	
3	0.859	0.737	0.467	0.218	0.102	0.048	0.002	0.000		
4	0.815	0.665	0.360	0.130	0.047	0.017	0.000			
5	0.774	0.599	0.277	0.077	0.021	0.006				
6	0.734	0.539	0.213	0.045	0.010	0.002				
7	0.696	0.484	0.163	0.027	0.004	0.001				
8	0.659	0.434	0.124	0.015	0.002	0.000				
9	0.590	0.389	0.095	0.009	0.001					
10	0.528	0.349	0.072	0.005	0.000					
12	0.470	0.279	0.041	0.002						
14	0.418	0.221	0.023	0.001						
16	0.371	0.175	0.013	0.000						
18	0.328	0.137	0.007							
20	0.254	0.107	0.004							
24	0.193	0.064	0.001							
28	0.193	0.037	0.000							
32	0.145	0.021								
36	0.107	0.012								
40	0.078	0.006								
50	0.031	0.001								
60	0.010	0.000								

A.2 MUESTREO DIRECTO O DIRIGIDO

A.2.1 Propósito

Los protocolos de muestreo directo o dirigido están diseñados para concentrar un mayor número de inspecciones o auditorías en los proveedores o productos considerados a posiblemente tener una probabilidad mayor que la población en general de encontrarse fuera de cumplimiento.

No es posible extrapolar de los resultados fuera de cumplimiento para derivar conclusiones acerca de la población en general porque una subpoblación que es considerada a tener una probabilidad mayor de estar fuera de cumplimiento está siendo sometida a muestreo (muestreo sesgado).

Sin embargo, si resultados en cumplimiento confirman los resultados del programa insesgado, éstos proporcionan un aseguramiento mayor de que el sistema está trabajando eficazmente.

Apéndice B**APÉNDICE B. MUESTREO DE PRODUCTOS****B1. ÁMBITO DE APLICACIÓN**

Este apéndice se aplica a los siguientes productos: productos alimenticios primarios de origen animal y productos de origen animal elaborados únicamente a partir de los alimentos primarios presentados en la Tablas A, B y C de este apéndice, y a la miel de los siguientes orígenes y/o métodos de procesamiento:

- (a) Miel de flores o miel de néctar que procede principalmente de los néctares de las flores.
- (b) Miel de mielada que procede principalmente de exudaciones de las partes vivas de las plantas o presentes en ellas.
- (c) Miel en panal depositada por las abejas en panales de reciente construcción y sin larvas, y vendida en panales enteros no desoperculados o en secciones de panales.
- (d) Miel extraída que se obtiene mediante la centrifugación de los panales desoperculados, sin larvas.
- (e) Miel prensada obtenida mediante la compresión de los panales sin larvas, con o sin la aplicación de calor moderado.

B2. DEFINICIONES

Lote: es un grupo identificable de animales o una cantidad identificable de un producto de origen animal destinado al uso alimentario, y con respecto a los cuales el funcionario oficial encargado de la toma de muestras haya determinado que tienen características comunes en cuanto a origen, variedad, tipo de envase, envasador o consignador, o marcado. Una remesa puede estar constituida por varios lotes.

Remesa es un grupo identificable de animales o una cantidad identificable de un producto de origen animal destinado al uso alimentario, según se describe en el documento de embarque de un determinado contratista. Los lotes en una remesa pueden tener distintos orígenes o pueden ser entregados en distintos momentos.

Muestra primaria: es una cantidad de material biológico representativo tomado de un solo animal (o grupo de animales) o de un solo lugar en el lote. Cuando la cantidad es insuficiente para el análisis de residuos, se podrán mezclar las muestras de más de un animal (o grupo de animales) o de más de un lugar en el lote para obtener la muestra primaria (por ejemplo, los órganos de aves de corral).

Muestra a granel: es la suma total de todas las muestras primarias tomadas de un mismo lote.

Muestra de laboratorio final: es la muestra primaria o a granel, o una porción representativa de la muestra primaria o a granel, destinada al análisis de laboratorio.

Porción de muestra para prueba de laboratorio final: es la porción representativa de la muestra de laboratorio final que se somete a análisis. La muestra de laboratorio en su totalidad puede utilizarse para el análisis en algunos casos, pero típicamente será subdividida en porciones de ensayo representativas para el análisis. Se prepara al reunir y mezclar perfectamente las muestras primarias.

Lote de miel: es una cantidad definida de miel entregada de una sola vez para su distribución, y con respecto a la cual el funcionario oficial encargado de la toma de muestras haya determinado que tiene características comunes en cuanto a origen, variedad, tipo de envase, envasador o consignador, o marcado.

Remesa de miel: es una cantidad definida de miel según se describe en un documento de envío de un contratista en particular. Una remesa puede estar constituida por varios lotes.

Muestra primaria de miel: es una cantidad de miel tomada de un solo lugar en el lote, a menos que esta cantidad sea insuficiente para el análisis de residuos. Cuando la cantidad sea insuficiente, se podrán mezclar las muestras provenientes de más de un lugar para obtener la muestra primaria.

B3. PROCEDIMIENTOS DE MUESTREO

Las muestras deberán ser tomadas por aquellos que estén oficialmente autorizados para este fin.

Cada lote a examinarse deberá someterse a muestreo por separado.

Durante el muestreo y el procesamiento se deberá tener cuidado para prevenir la contaminación de las muestras u otros cambios en las mismas que pudieran alterar los residuos, afectar la determinación analítica o hacer que la porción de ensayo de laboratorio no sea representativa de la muestra a granel o de la muestra de laboratorio.

En la Tabla A: Productos de carnes y aves de corral, en la Tabla B: Leche, huevos y productos lácteos y en la Tabla C: Productos de acuicultura, se presenta una orientación sobre el tipo y la cantidad de muestra para distintos productos. Las siguientes son instrucciones generales:

- (a) Cada muestra primaria debería tomarse de un solo animal (o grupo de animales) o unidad en un lote y, de ser posible, seleccionarse al azar.
- (b) Cuando se requieren varios animales para obtener un tamaño de muestra adecuado para la muestra primaria (p. ej., el hígado de aves de corral), las muestras deberían obtenerse consecutivamente después de seleccionar el punto de partida al azar.
- (c) Los productos congelados no deberían descongelarse antes del muestreo.
- (d) Los productos en conserva o envasados no deberían abrirse para el muestreo a menos que el tamaño unitario sea como mínimo el doble de la cantidad requerida para la muestra de laboratorio final. La muestra de laboratorio final debería contener una porción representativa de los jugos que acompañan al producto.
- (e) Las latas o envases cerrados que constituyan una muestra de laboratorio final deberían enviarse intactos y sin abrir al laboratorio para análisis.
- (f) El contenido de las latas o los envases abiertos por el inspector autorizado debería congelarse como se describe en el párrafo 170d antes de remitirlo al laboratorio para análisis.
- (g) En las unidades grandes de producto con hueso (p. ej., cortes de carne para asar) se deberían tomar muestras sólo del producto comestible para obtener muestras primarias.
- (h) Cuando las porciones de una sola unidad sean menos de lo que constituye una muestra primaria, es necesario tomar una unidad adicional para muestreo a fin de satisfacer los requisitos de la muestra a granel.
- (i) Las porciones restantes de las muestras de laboratorio finales deberían congelarse y almacenarse en condiciones que conserven la integridad de la muestra.

El número de las muestras primarias a obtenerse dependerá de si el lote se considera o no sospechoso.

Un lote se considera sospechoso si hay:

- (a) antecedentes de incumplimiento con el LMRMV;
- (b) pruebas de contaminación durante el transporte;
- (c) indicios de toxicosis (intoxicación sistémica) observados durante la inspección ante o post mortem, u
- (d) otra información pertinente que esté disponible al funcionario autorizado encargado de la inspección.

Se debería obtener desde un mínimo de seis hasta un máximo de treinta muestras primarias de un lote sospechoso. Cuando se prevea que los residuos sospechosos estarán presentes en todo el lote, el número más pequeño de muestras será suficiente.

Las importaciones de países que no lleven a cabo programas de verificación para comprobar el cumplimiento con los LMRMV deberían someterse a muestreo como lotes sospechosos.

B4. INSTRUCCIONES ESPECÍFICAS PARA LA PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA LA MIEL

- (a) Tómense 250 ml de miel líquida o colada, después de las siguientes preparaciones, según corresponda;

- (b) Miel en panales licuada: Córtese la parte superior del panal, si está operculado, y sepárese completamente la miel del panal filtrándola por un tamiz cuya malla tenga un reticulado cuadrado de 0.500 mm por 0.500 mm (ISO 565-1990)¹⁷.
- (c) Si hay alguna sustancia extraña, tal como la cera, palillos, abejas, partículas de panal, etc., la muestra deberá calentarse en un baño María hasta alcanzar una temperatura de 40°C y deberá filtrarse a través de una estopilla, colocada en un embudo con circulación de agua caliente, antes de tomar la muestra.

Si la muestra está exenta de gránulos, deberá mezclarse perfectamente, removiendo y agitando; si se tienen gránulos, deberá meterse el envase cerrado en un baño María, sin sumergirlo, y calentarlo durante 30 minutos a 60°C; luego, si es necesario, deberá calentarse a una temperatura de 65°C hasta que la miel se licue. Es esencial agitar la muestra de vez en cuando. Tan pronto como la muestra se licue, se deberá mezclar perfectamente y enfriarla rápidamente.

B5. PREOCUPACIONES ESTADÍSTICAS

Para los lotes no sospechosos se recomienda un programa de muestreo insesgado, basado en la estadística. Se puede utilizar cualquiera de los siguientes tipos de muestreo.

B5.1 Muestreo aleatorio estratificado

Cuando las remesas estén mezcladas, no se podrán aplicar los criterios aleatorios simples y se debería considerar el muestreo aleatorio estratificado.

En el muestreo aleatorio estratificado la remesa está dividida en grupos no superpuestos o estratos, p. ej., origen geográfico, géneros, tiempo, etc. Se toma una muestra de cada estrato.

La homogeneidad dentro de cada estrato es mejor que en la población total. Los países o las regiones geográficas se consideran estratos naturales tomando como fundamento la uniformidad en las prácticas agrícolas.

Los estratos temporales (por ejemplo, mes, trimestre, etc.) son comúnmente utilizados para efectos de conveniencia, eficacia y para detectar la variabilidad estacional. Se deberían utilizar tablas de números aleatorios¹⁸ u otras técnicas objetivas para asegurar que todos los elementos de una población tengan una probabilidad idéntica e independiente de ser incluidos en la muestra.

B5.2 Muestreo sistemático

En el muestreo sistemático, las unidades se seleccionan de la población en un intervalo regular (por ejemplo, una vez cada hora, un lote sí un lote no, etc.).

Éste puede aplicarse cuando hay información fiable sobre los volúmenes del producto para determinar el intervalo de muestreo que proporcionará el número deseado de muestras a lo largo del tiempo. No obstante,

- (a) si el sistema de muestreo es demasiado predecible, podría hacerse uso indebido de éste;
- (b) las remesas necesitan ser homogéneas, porque las unidades de muestreo sistemático están distribuidas uniformemente en la población.

B5.3 Muestreo sesgado o estimado del caso más desfavorable

En el muestreo sesgado o estimado del caso más desfavorable, el investigador utiliza su criterio y experiencia con respecto a la población, lote o marco de muestreo para decidir qué muestras primarias se deberán elegir.

¹⁷ Este tamiz puede sustituirse por el tamiz de EE.UU. con una malla normalizada N^o. 40 (tamaño del retículo 0.420 mm)

¹⁸ Las tablas de números aleatorios consiste en series de dígitos generados aleatoriamente (0-9). Para mejorar la legibilidad, hay espacios, p. ej., después de cada 4^o dígito y entre cada 10^a fila. La lectura puede empezar en cualquier punto (al azar) pero una vez que se haya iniciado la lectura se debe continuar a lo largo de la línea horizontalmente o hacia abajo en la columna y NO saltar de un lado a otro. Ejemplo: fragmento de una tabla de números de muestreo aleatorio: 3680 2231 8846 5418 0498 5245 7071 2597.

Se podría identificar el grupo de la población que se anticipa tendrá el mayor riesgo, pero no debería elaborarse una conclusión general acerca de la población sometida a muestreo a partir de los datos obtenidos (muestras no aleatorias).

B6. PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE LABORATORIO

La muestra de laboratorio final se remite para análisis.

Algunas legislaciones / regulaciones nacionales / regionales podrían requerir que la muestra de laboratorio final se subdivida en dos o más porciones para realizar análisis por separado. Cada porción debería ser representativa de la muestra de laboratorio final. Deberían observarse las precauciones que se indican en los *procedimientos de muestreo*.

La porción de ensayo de laboratorio debería prepararse a partir de la muestra de laboratorio final empleando un método de reducción adecuado.

B7. ENVÍO / TRANSPORTE DE MUESTRAS DE LABORATORIO

La muestra de laboratorio final debería prepararse como sigue:

- (a) Cada muestra debería colocarse en un envase limpio, térmicamente aislado y químicamente inerte para proteger la muestra contra la contaminación, la descongelación e impedir que sufra daños en el transporte.
- (b) El envase debería cerrarse herméticamente de manera que pueda detectarse cualquier apertura no autorizada.
- (c) El envase debería enviarse cuanto antes posible al laboratorio, después de haber adoptado precauciones para evitar el derrame y el deterioro.
- (d) En caso de transporte, todas las muestras perecederas deberían congelarse a menos 20°C, inmediatamente después de la toma, y colocarse en un envase apropiado que retarde la descongelación. Se deberían utilizar bolsas de congelación comerciales o algún otro refrigerante adecuado para conservar las temperaturas de congelación durante el transporte. Las muestras y las bolsas de congelación comerciales deberían estar totalmente congeladas a menos 20°C antes del envío.
- (e) Las porciones en duplicado de la muestra de laboratorio final que pudieran haber sido retenidas según los requisitos de la legislación nacional / regional o como una política administrativa deberían colocarse en un envase limpio, químicamente inerte para proteger la muestra contra la contaminación, cerrarse herméticamente de manera que pueda detectarse cualquier apertura no autorizada y almacenarse en condiciones adecuadas para prevenir un cambio en el producto o en los residuos que pudiera contener en caso de que se requieran análisis futuros para efectos de comparación con los resultados analíticos obtenidos en el material de muestra remitido al laboratorio.

B8. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS EN EL LABORATORIO

Para efectos de control, el LMRMV se aplica a la concentración de residuos encontrada en cada muestra de laboratorio tomada de un lote.

El cumplimiento del lote con un LMRMV se logra cuando el resultado medio del análisis de las porciones de ensayo de laboratorio no indica la presencia de un residuo que sobrepasa el LMRMV.

B9. REGISTROS DEL MUESTREO

Cada muestra primaria o a granel y cada muestra de laboratorio final debería estar exclusivamente relacionada con un registro que indique el tipo de muestra, los análisis requeridos, su origen (p. ej., país, estado o ciudad), la ubicación donde se tomó la muestra, la fecha del muestreo y la información adicional que sea requerida para medidas de seguimiento en caso de que fuera necesario.

Si hay una desviación de los procedimientos recomendados para el muestreo, en los registros que acompañen a la muestra se deberían describir en detalle los procedimientos que fueron, de hecho, aplicados.

ORIENTACIÓN SOBRE EL TIPO Y LA CANTIDAD DE MUESTRA PARA DISTINTOS PRODUCTOS**Tabla A:** Productos de carnes y aves de corral

PRODUCTO	INSTRUCCIONES PARA LA TOMA DE MUESTRAS	MÍNIMA CANTIDAD REQUERIDA PARA LA MUESTRA DE LABORATORIO
I. Grupo 030 (Carnes de mamíferos)		
A. Canales enteras o mitades de canales, normalmente con un peso unitario de 10 kg o más	Tómese músculo diafragmático, complementando en caso necesario con músculo cervical, de un solo animal.	500 g
B. Canales pequeñas (p. ej., de conejo)		500 g después de haber extraído piel y huesos
C. Partes frescas o refrigeradas		
1. Peso unitario mínimo de 0.5 kg, excluidos los huesos (p. ej., cuartos, espaldillas, carnes para asados)	Tómese músculo de una sola unidad.	500 g
2. Peso unitario inferior a 0.5 kg (p. ej., chuletas, filetes)	Tómese el número de unidades del envase seleccionado que sea necesario para cumplir los requisitos del laboratorio relativos al tamaño de la muestra.	500 g después de haber extraído los huesos
D. Partes congeladas a granel	Tómese una sección transversal congelada del envase seleccionado o tómese músculo de un trozo grande.	500 g
E. Partes congeladas o refrigeradas envasadas para la venta al por menor o unidades envueltas individualmente para la venta al por mayor	En el caso de cortes grandes, tómese músculo de una sola unidad o tómense muestras del número de unidades que sea necesario para cumplir los requisitos del laboratorio relativos al tamaño de la muestra.	500 g después de haber extraído los huesos
Ia. Grupo 030 (Carnes de mamíferos donde el LMR se expresa en función de la grasa de la canal)		
A. Animales sometidos al muestreo en el momento del sacrificio	Véanse las instrucciones bajo el punto II. Grupo 031.	
B. Otras partes de la carne	Tómese 500 g de grasa visible o producto suficiente para obtener de 50 a 100 g de grasa para el análisis. (Normalmente se necesitan de 1.5 a 2.0 kg de producto para cortes sin grasa extraíble).	Suficiente para obtener de 50 a 100 g de grasa

PRODUCTO	INSTRUCCIONES PARA LA TOMA DE MUESTRAS	MÍNIMA CANTIDAD REQUERIDA PARA LA MUESTRA DE LABORATORIO
II. Grupo 031 (Grasas de mamíferos)		
A. Animales grandes sometidos al muestreo en el momento del sacrificio, que pesan habitualmente 10 kg como mínimo	Tómese grasa abdominal, subcutánea o del riñón de un solo animal.	500 g
B. Animales pequeños sometidos al muestreo en el momento del sacrificio ^(a)	Tómese grasa abdominal y subcutánea de uno o más animales.	500 g
C. Tejido adiposo a granel	Tómense porciones de idénticos tamaños de tres lugares del envase.	500 g
III. Grupo 032 (Visceras o menudencias comestibles de mamíferos)		
A. Hígado	Tómese hígado(s) entero(s) o una porción suficiente para cumplir los requisitos del laboratorio relativos al tamaño de la muestra.	400 - 500 g
B. Riñón	Tómese uno o ambos riñones, o riñones de más de un animal, suficientes para cumplir los requisitos del laboratorio relativos al tamaño de la muestra. Si se alcanza el límite inferior establecido para el tamaño de la muestra, no se tomarán muestras de más de un animal.	250 - 500 g
C. Corazón	Tómese un corazón entero o una porción de un ventrículo suficiente para cumplir los requisitos del laboratorio relativos al tamaño de la muestra.	400 - 500 g
D. Otros productos de vísceras o menudencias comestibles frescos, refrigerados o congelados	Tómese una porción obtenida de un solo animal, a menos que productos de más de un animal sean necesarios para cumplir los requisitos del laboratorio relativos al tamaño de la muestra. Podrá tomarse una sección transversal del producto congelado a granel.	500 g
IV. Grupo 036 (Carnes de aves de corral)		
A. Canales enteras de aves grandes, que suelen pesar de 2 a 3 kg o más (p. ej., pavo, pollo adulto, ganso, pato)	Tómese un muslo, pierna u otra carne oscura de una sola ave.	500 g después de haber extraído piel y huesos

PRODUCTO	INSTRUCCIONES PARA LA TOMA DE MUESTRAS	MÍNIMA CANTIDAD REQUERIDA PARA LA MUESTRA DE LABORATORIO
B. Canal entera de ave, que suele pesar entre 0.5 y 2 kg (p. ej., pollo joven, pato joven, gallina de guinea)	Tómese un muslo, pierna u otra carne oscura de 3 a 6 aves, según el tamaño.	500 g después de haber extraído piel y huesos
C. Canales enteras de aves muy pequeñas, que suelen pesar menos de 500 g (p. ej., codorniz, paloma)	Tómese como mínimo seis canales enteras.	250 - 500 g de tejido muscular
D. Partes frescas, refrigeradas o congeladas		
1. Envasadas para la venta al por mayor		
a. Partes grandes	Tómese una unidad interior de un envase determinado.	500 g después de haber extraído piel y huesos
b. Partes pequeñas	Tómense suficientes partes de una capa determinada del envase.	500 g después de haber extraído piel y huesos
2. Envasadas para la venta al por menor	Tómese un número de unidades de un envase determinado para cumplir los requisitos del laboratorio relativos al tamaño de la muestra.	500 g después de haber extraído piel y huesos
IVa. Grupo 036 (Carnes de aves de corral donde el LMRMV se expresa en función de la grasa de la canal)		
A. Aves sometidas al muestreo en el sacrificio	Véanse las instrucciones bajo el punto V. Grupo 037	
B. Otras carnes de aves de corral	Tómese 500 g de grasa o producto suficiente para obtener de 50 a 100 g de grasa. (Normalmente se necesitan de 1.5 a 2.0 kg).	500 g de grasa o tejido suficiente para obtener de 50 a 100 g de grasa
V. Grupo 037 (Grasas de aves de corral)		
A. Aves sometidas al muestreo en el sacrificio	Tómese grasa abdominal de 3 a 6 aves, según el tamaño.	Suficiente para obtener de 50 a 100 g de grasa
B. Tejido adiposo a granel	Tómense porciones de idénticos tamaños de tres lugares del envase.	500 g
VI. Grupo 038 (Visceras o menudencias comestibles de aves de corral)		

PRODUCTO	INSTRUCCIONES PARA LA TOMA DE MUESTRAS	MÍNIMA CANTIDAD REQUERIDA PARA LA MUESTRA DE LABORATORIO
A. Hígado	Tómense 6 hígados enteros o un número suficiente para cumplir los requisitos del laboratorio relativos a la muestra.	250 - 500 g
B. Otros productos de vísceras o menudencias comestibles frescos, refrigerados o congelados	Tómense partes adecuadas de 6 aves. Si se trata de productos congelados a granel, tómese una sección transversal del envase.	250 - 500 g
VII. Clase E - Tipo 16 (Productos cárnicos secundarios de reses y aves de corral)		
A. Producto triturado fresco, refrigerado o congelado proveniente de una sola especie	Tómese una sección transversal representativa del producto fresco o congelado de un determinado envase o unidad envasada.	500 g
B. Grupo 080 (Productos cárnicos secos)	Tómese un número de unidades envasadas de un envase determinado suficiente para cumplir los requisitos del laboratorio relativos al tamaño de la muestra.	500 g, a menos que el contenido de grasa sea inferior al 5% y que el LMRMV se exprese en función de la grasa. En ese caso se necesitarán de 1.5 a 2.0 kg.
VIII. Clase E - Tipo 18 (Productos manufacturados de origen animal, con un solo ingrediente)		
A. Producto en conserva (p. ej., jamón, res, pollo), con un tamaño unitario de 1 kg o mayor	Tómese una sola lata de un lote. Cuando el tamaño unitario sea grande (mayor de 2 kg), se puede tomar una muestra representativa que incluya jugos.	500 g, a menos que el contenido de grasa sea inferior al 5% y que el LMRMV se exprese en función de la grasa. En ese caso se necesitarán de 1.5 a 2.0 kg.
B. Producto curado, ahumado o cocido (p. ej., lonchas de tocino o panceta, jamón, pavo, carne de res cocida), con un tamaño unitario de un 1 kg como mínimo	Tómese una porción de una unidad grande (mayor de 2 kg), o tómese una unidad entera, según el tamaño.	500 g, a menos que el contenido de grasa sea inferior al 5% y que el LMRMV se exprese en función de la grasa. En ese caso se necesitarán de 1.5 a 2.0 kg.
IX. Clase E - Tipo 19 (Productos manufacturados de origen animal, con varios ingredientes)		
A. Embutidos y rollos de carne "luncheon", con tamaño unitario de 1 kg como mínimo	Tómese una porción transversal de una unidad grande (mayor de 2 kg), o tómese una unidad entera, según el tamaño.	500 g

(a) Cuando la grasa adherida sea insuficiente para proporcionar una muestra adecuada, se analiza el producto solo sin el hueso, y el LMR se aplicará exclusivamente al producto.

Tabla B: Leche, huevos y productos lácteos

Producto	Instrucciones para la toma de muestras	Mínima cantidad requerida para la muestra de laboratorio
I. Grupo 033 (Diversos tipos de leche)	A granel. Mézclese bien y tómesese inmediatamente una muestra con un cucharón. En envases para la venta al por menor. Tómensese unidades suficientes para satisfacer los requisitos de tamaño de la muestra de laboratorio.	500 ml
II. Grupo 082 (Productos lácteos secundarios)	A. Leche desnatada - leche desnatada y semidesnatada Iguales a las indicadas en el caso de la leche líquida entera. Envases a granel (barriles, toneles). Mézclese cuidadosamente el contenido y ráspense las paredes interiores y el fondo del envase para extraer el material adherido. Extráiganse de 2 a 3 litros, repítase la operación de revolver y tómesese una muestra de 500 ml.	500 ml
B. Leche evaporada - nata completa evaporada y leche desnatada	Envases pequeños para la venta al por menor. Tómensese unidades suficientes para satisfacer los requisitos de tamaño de la muestra de laboratorio.	500 ml
C. Leche en polvo	1. Entera Envases para productos a granel. Introdúzcase con firmeza en el polvo un tubo de sondeo seco con una velocidad pareja de penetración. Extráiganse suficientes testigos para conformar una muestra de 500 g. Envases pequeños para la venta al por menor. Tómensese unidades suficientes para satisfacer los requisitos de tamaño de la muestra de laboratorio.	500 g
2. Desnatada	Iguales que las indicadas en el caso de la leche entera en polvo.	500 g
III. Grupo 087 (Productos derivados de la leche)	A. Nata - fresca, congelada y UHT; sola, para batir, batida, con doble nata y cuajada Envases para productos a granel. Agítense para asegurar una buena mezcla moviendo la	200 ml

Producto	Instrucciones para la toma de muestras	Mínima cantidad requerida para la muestra de laboratorio
B. Mantequilla - con la inclusión de la mantequilla de suero y las emulsiones para untar con bajo contenido de grasa que contengan grasa de mantequilla	<p>paleta de un lugar a otro a fin de evitar la formación de espuma, el batido y la butirización. Tómese una muestra de 200 ml con un cucharón.</p> <p>Envases pequeños.</p> <p>Tómense unidades suficientes para satisfacer los requisitos de tamaño de la muestra de laboratorio.</p> <p>A granel. Tómense dos o más testigos de mantequilla para conformar una muestra total con un peso de 200 g como mínimo</p> <p>En forma de pellas o de rollos.</p> <p>Divídanse en cuatro las unidades que pesen más de 250 g y tómense los cuartos opuestos. Las unidades que pesan menos de 250 g, deberían considerarse como una muestra.</p>	200 g
C. Aceite de mantequilla (manteca) - con inclusión del aceite de mantequilla anhidro y de la grasa de leche anhidra	Mézclase bien y tómese una muestra de 200 g.	200 g
<p>IV. Grupo 090 (Productos lácteos manufacturados, con un solo ingrediente)</p>		
A. Yogur - natural, desde el yogur con bajo contenido de grasa hasta el yogur con nata entera	Escoja un número de unidades suficiente para satisfacer los requisitos de laboratorio.	500 g
B. Quesos - todas las variedades	<p>Háganse dos cortes partiendo del centro del queso si éste tiene una base circular o paralelos a los lados si la base es rectangular. El trozo extraído debería satisfacer los requisitos de tamaño de la muestra de laboratorio.</p> <p>En el caso de los quesos pequeños y las porciones de queso envueltas, tómense unidades suficientes para satisfacer los requisitos de la muestra de laboratorio.</p>	200 g

Producto	Instrucciones para la toma de muestras	Mínima cantidad requerida para la muestra de laboratorio
V. Grupo 092 (Productos lácteos manufacturados, con ingredientes múltiples)		
A. Helados a base de leche - Sólo los helados que contengan un 5% o más de grasa de leche	Selecciónense bloques o unidades suficientes para satisfacer los requisitos de tamaño de la muestra de laboratorio.	500 ml
B. Preparados a base de queso elaborado	Selecciónense unidades suficientes para satisfacer los requisitos de tamaño de la muestra de laboratorio.	200 g
C. Yogur aromatizado	Iguales a las instrucciones para el yogur natural.	500 g
D. Leche condensada edulcorada	Iguales a las instrucciones para la leche evaporada.	500 ml
VI. Grupo 039 (Huevos y productos a base de huevo)		
A. Huevos líquidos y congelados	Utilizar un programa de muestreo. El tamaño de la submuestra equivaldrá a 250 ml de producto líquido o 500 ml de virutas obtenidas mediante perforaciones asépticas en los envases.	500 g
B. Productos a base de huevo secos	Utilizar un programa de muestreo. Para envases de 500 g o menos, o de 25 ml o menos, tómese un mínimo de dos unidades por submuestra. Para envases de 500 g a 10 kg selecciónese una unidad por submuestra. Para envases de 10 kg o más, tómese 1 kg de cada unidad sometida a muestreo. Tómense las muestras con una técnica aséptica.	500 g
C. Huevos con cáscara		
1. Envases para la venta al por menor	Utilizar un programa de muestreo. El tamaño de la submuestra será de una docena de huevos.	500 g o 10 huevos enteros
2. Cajas comerciales	Para 15 cajas o menos, tómese una docena de huevos de cada caja, con un mínimo de dos docenas de huevos. Para 16 cajas o más, tómese una docena de huevos de 15 cajas elegidas al azar.	500 g o 10 huevos enteros

Tabla C: Productos de acuicultura

Producto	Instrucciones para la toma de muestras	Mínima cantidad requerida para la muestra de laboratorio
<p>VII Clase B - Tipo 08 (Productos derivados de animales acuáticos)</p> <p>A. pescados empacados: frescos, congelados, ahumados, curados, o mariscos (a excepción de los ostiones).</p> <p>1. Empacados para venta al por mayor</p> <p>2. Empacados para venta al detalle</p> <p>B. Pescado para venta al por mayor</p> <p>C. Mariscos para venta al por mayor.</p>	<p>Tome suficientes unidades del paquete seleccionado para cumplir con los requisitos del laboratorio relativos al tamaño de muestra.</p> <p>Tome suficientes unidades de los paquetes seleccionados para cumplir con los requisitos del laboratorio relativos al tamaño de muestra.</p> <p>Tome suficiente tejido comestible del pescado, dependiendo del tamaño.</p> <p>Tome la cantidad suficiente de marisco, dependiendo del tamaño.</p>	<p>500 g de tejido comestible.</p>
<p>VII Clase E - Tipo 17 (Productos comestibles derivados de animales acuáticos)</p> <p>A. Productos de pescado y mariscos enlatados (a excepción de los ostiones).</p> <p>B. Otros productos de pescado y mariscos.</p>	<p>Tome suficiente tejido para cumplir con los requisitos del laboratorio relativos al tamaño de muestra.</p> <p>Utilice el programa de muestreo.</p> <p>Tómese muestras principales para cumplir con los requisitos del laboratorio relativos al tamaño de muestra.</p>	<p>500 g de tejido comestible</p> <p>500 g</p>

Apéndice C**APÉNDICE C. ANTEPROYECTO DE DIRECTRICES SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES PARA EL ANÁLISIS DE RESIDUOS MÚLTIPLES (MRMS) PARA MEDICAMENTOS VETERINARIOS****C1. ÁMBITO DE APLICACIÓN**

El propósito de este Apéndice es describir las características y/o los parámetros de rendimiento que deberá tener un método de residuos múltiples (MRM), para proporcionar una confianza internacional aceptable en éste, de tal forma que arroje resultados apropiados para la evaluación de los residuos de medicamentos veterinarios, ya sea para programas nacionales o el comercio internacional. Sus usos pudieran incluir: Screening / tamiz, cuantificación o confirmación, cada uno de los cuales tendrán requisitos funcionales distintos.

Este Apéndice se aplica a los MRMs usados para analizar todos los residuos de medicamentos y sustancias veterinarias que pudieran utilizarse como medicamentos veterinarios. Estos MRMs incluyen ciertos plaguicidas que tienen usos veterinarios y que pudieran estar presentes como residuos en los productos alimenticios. La Directriz sobre la validación de los métodos de residuos múltiples para el uso no veterinario de los plaguicidas está contenida en las CAC/GL 40-1993: *Directrices sobre buenas prácticas de laboratorio en el análisis de residuos de plaguicidas*.

Para los efectos de este Apéndice, un MRM es considerado como aquél método de análisis cuyo ámbito de aplicación incluye tres o más analitos en la misma clase o en más de una clase de medicamentos veterinarios. Estos MRMs pueden usarse al revisar muestras para detectar la posible presencia de medicamentos veterinarios o en análisis cuantitativos o de confirmación. Esta directriz cubre estas tres situaciones, descritas en el párrafo anterior. Debe señalarse que un MRM validado, puede incluir algunos analitos para los que ya se han validado totalmente sus características de funcionalidad cuantitativa, así como otros analitos para los que no se dispone de criterios de precisión y/o recuperación para los análisis cuantitativos o para los que no se dispone de los datos requeridos para la confirmación del residuo. No obstante, aquellos analitos deben estar claramente definidos en el método y no deben usarse para estos propósitos hasta que hayan sido validados y/o se haya demostrado que son adecuados para los requerimientos (1).

C2. DEFINICIONES

Conformes o resultado negativo: Un resultado que indica que el analito no está presente en o arriba de la concentración calibrada más baja. (También consulte el Límite de detección en la CAC/GL 72-2009).

Método confirmatorio: Un método que proporciona información completa o complementaria que permite la identificación del analito con un grado de certeza aceptable en la concentración de interés.

Límite de adopción de decisiones (CC α): Límite en el que puede decidirse que la concentración del analito presente en una muestra, realmente sobrepasa el límite con una probabilidad de error α (falso positivo).

Capacidad de detección (CC β): Concentración veraz más baja del analito que pudiera detectarse, identificarse y cuantificarse en una muestra, con una probabilidad de error de β (falso negativo).

Residuo acumulado: Residuos de un analito en una matriz, surgidos a través de la ruta por la que las concentraciones traza pudieran esperarse normalmente, debido a un tratamiento o dosificación acorde al uso previsto, en contraposición a los residuos de muestras enriquecidas en el laboratorio.

Matriz: Material o componente muestreado para estudios analíticos, excluyendo al analito.

Matriz en blanco: Material muestra que no contiene una concentración detectable de los analitos de interés.

Método: Serie de procedimientos, desde el recibo de una muestra para su análisis y a todo lo largo de la producción del resultado fina.

Método de residuos múltiples (MRM): Método que es adecuado para la identificación y cuantificación de un rango de analitos, usado normalmente en distintas matrices y que incluyen tres o más analitos en la misma clase o más de una clase de medicamentos veterinarios en su alcance.

Presunto positivo o Resultado sospechoso: Resultado que sugiere la presencia del analito con una concentración en o arriba de la concentración calibrada más baja.

Resultado positivo: Resultado que indica la confirmación de la presencia del analito en o arriba de la concentración calibrada más baja.

Método cuantitativo: Método capaz de producir resultados expresados como valores numéricos en unidades apropiadas, con exactitud y precisión adecuadas para el propósito establecido. El grado de precisión y veracidad debe cumplir con los criterios especificados en la Tabla 1 de las CAC/GL 71-2009.

Preparación de la muestra: El procedimiento usado, de así requerirse, para convertir la muestra de laboratorio en una muestra analítica, eliminando aquellas partes que no serán incluidas en el análisis.

Procesamiento de la muestra: El/os procedimiento(s) (por ej., cortar, triturar, mezclar) usado(s) para dar a la muestra analítica una homogeneidad aceptable con respecto a la distribución del analito antes de extraer la porción analítica.

Método de screening / Tamiz: Método usado para detectar la presencia de un analito o clase de analito en o arriba de la concentración mínima de interés.

C3. RESUMEN DE LOS PARÁMETROS FUNCIONALES A SER CARACTERIZADOS Y DEFINIDOS POR LOS MÉTODOS ANALÍTICOS DE RESIDUOS MÚLTIPLES

Los parámetros característicos, a continuación, necesitan ser medidos para cada analito y para cada matriz a ser estudiada, como corresponda:

(a) Selectividad

- (i) Libre de interferencias
- (ii) Efectos de la matriz: Caracterizados y controlados por el método, en caso de que hubiera alguno.
- (iii) Se han determinado los parámetros de respuesta del detector ya sea cualitativa, cuantitativa y/o de confirmación (Capacidad de detección (CC β) y para los análisis de screening / tamiz, para cubrir los valores límite o el umbral)

(b) Calibración

- (i) Sensibilidad
- (ii) Rango de calibración
- (iii) Función de la calibración
- (iv) LOD y LOQ, y/o CC α y CC β .

(c) Fiabilidad de los resultados

- (i) Recuperación
- (ii) Exactitud (veracidad y precisión)
- (iii) Medida de incertidumbre
- (iv) Prueba de robustez (fortaleza), incluye la identificación de los puntos de control crítico y los posibles puntos de parada o detención.

(d) Estabilidad de los analitos.

- (i) Estabilidad en los extractos de la muestra y en las soluciones normales;
- (ii) Estabilidad durante el procesamiento y análisis de la muestra.
- (iii) Estabilidad durante el almacenamiento congelado y las condiciones cíclicas de congelación-descongelación.

(e) Estudios de residuos no añadidos (si no se dispusiera de los materiales adecuados).

- (i) Verificar que los residuos no añadidos sean extraídos con tanta efectividad como los analitos fortificados.
- (ii) Verificar la funcionalidad de cualesquiera de los pasos incluidos en el método para liberar sustancias químicas ligadas a los residuos, donde así se necesite.
- (iii) Verificar la consistencia de la recuperación y la precisión.

C4. CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES PARA LOS MRMS

Debe entenderse que las características funcionales listadas en el párrafo 4, deben ser definidas y medidas para cada analito individual, listado en el ámbito de aplicación del método de residuos múltiples totalmente optimizado. Esto se logra mejor luego de que se ha determinado que el desarrollo y/o modificación del método ha sido finalizado y que el método analítico no estará sujeto a ningún cambio o modificación adicional. A este respecto, los conceptos involucrados son muy parecidos a aquellos para determinar las características funcionales de un analito en un método de análisis de un solo analito como se explica en las CAC/GL 71-2009, párrafos 160 al 181. Para evitar repeticiones, en este Apéndice sólo se señalarán aquellas diferencias a considerar para un analito individual.

Es de esperarse que el requisito para que los MRMs detecten con éxito los residuos de una gran variedad de medicamentos veterinarios distintos en una matriz alimenticia compleja, de como resultado un incremento en el riesgo de interferencia, causado por otro material contenido en la matriz de la muestra, al compararlos con métodos de analitos individuales. Si se requiere que el MRM analice diferentes matrices o una matriz de especies distintas, el riesgo se incrementa aún más. Al considerar la funcionalidad de los MRMs, y de acuerdo con lo anteriormente dicho, se necesita dar un énfasis particular a las características funcionales relativas a la capacidad de detección y selectividad,

C5. CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES DE LOS MRMS PARA LOS ANÁLISIS DE SCREENING /TAMIZ

Normalmente los análisis de screening / tamiz para los MRMs son de naturaleza cuantitativa y a menudo cubren un rango de analitos, especies y matrices, con el objetivo de diferenciar las muestras que no contienen residuos detectables más allá del valor límite o del umbral ("negativas/conformes") de aquellas que pudieran contener residuos ("positivas/presuntas positivas/sospechosas positivas") arriba del umbral o del valor límite.

Los métodos de screening / Tamiz para medicamentos veterinarios aprobados deben demostrar una selectividad del 90% con una confianza del 95% y una sensibilidad a la concentración más baja a la que el analito objetivo pudiera ser detectado de manera confiable, dentro de los límites estadísticos definidos, que normalmente con un límite de confianza del 95%. Para efectos de regulación, estos métodos de screening / Tamiz pueden tolerar un número pequeño de resultados "falsos positivos", y como en cualquier muestra de screening / Tamiz "positiva/presunta positiva/sospechosa positiva", deberían realizarse otros análisis para contar con una confirmación adicional, y/o análisis cuantitativos para identificar y/o cuantificar la presencia del residuo "sospechoso". Para todos los otros medicamentos veterinarios que NO están aprobados a usarse, este Apéndice puede usarse para adoptar decisiones sobre el criterio de funcionamiento que pudiera necesitar desarrollarse.

Los criterios para identificar el umbral o los valores límite para los métodos de screening / Tamiz se encuentran en el texto principal (párrafo 163).

C6. CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES DE LOS MRMS PARA LOS ANÁLISIS CUANTITATIVOS

El requisito para recuperar un rango de residuos de medicamentos veterinarios diferentes en una sola extracción, incrementa la posibilidad de comprometer la selectividad de los MRMs, si se compara con los métodos de un analito individual. Es posible usar una extracción menos selectiva y procedimientos de limpieza que den como resultado que el extracto final tenga una mayor cantidad de materia co-extraído de la matriz. La naturaleza y cantidades de tal material co-extraído puede variar notablemente, dependiendo de la historia de la muestra individual. Por ello es necesario tener mucho cuidado al establecer el criterio para la precisión y veracidad de los MRMs, de tal manera que se asegure que la cuantificación no se verá afectada por la interferencia de otros compuestos presentes en la matriz de la muestra. Se recomienda que los métodos utilizados para respaldar a los LMRs del Codex cumplan con los valores normalizados especificados para la veracidad y precisión enumerados en la Tabla 1 del texto principal. Para asegurar que los efectos de las distintas muestras sean tomados en cuenta cuando se evalúa la funcionalidad contra estos criterios, se recomienda que la determinación de éstos parámetros siga la orientación contenida en el texto principal (párrafos 171-174). Deberá usarse la precisión intermedia para la recuperación de los analitos fortalecidos en estas muestras distintas, para la comparación de los criterios en la Tabla 1 del texto principal, en lugar de la precisión de la repetibilidad.

Sin embargo, cuando no se disponga de una guía para proporcionar una concentración objetivo para un analito específico, pudiera considerarse un valor basado en la evaluación del riesgo a la salud pública y no basarse en la detección de los límites de la instrumentación analítica disponible.

En los métodos analíticos para los residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos, se está haciendo cada vez más común, basarse en la determinación cuantitativa con base en la curva normal, preparada sumando la de la norma al material conocido y representativa de la matriz testigo antes de la extracción del analito, en un rango de concentraciones apropiado al nivel de la concentración objetivo. El uso de dicho método para la calibración, en el que la curva normal se ajusta a la matriz (ajuste matricial), incorpora en sí mismo, una corrección de recuperación en los resultados analíticos obtenidos, pero pudiera introducir un nuevo sesgo relacionado con el comportamiento de la matriz objetivo particular, usada en la construcción de la curva normal. Se recomienda que la veracidad de los métodos empleados en la calibración de del ajuste matricial de las curvas siga la orientación proporcionada en el texto principal (párrafos 171-174).

Pudieran aplicarse enfoques alternativos a la validación del método y que utilizan los parámetros: Límite de adopción de decisiones ($CC\alpha$) y Capacidad de detección ($CC\beta$). Estos dos parámetros incorporan la medición de la incertidumbre.

C7. CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES DE LOS MRMS PARA LOS MÉTODOS DE CONFIRMACIÓN

Los pasos necesarios para lograr una identificación positiva, recaen en el juicio experto del analista, y debe prestarse una atención especial a la selección del método que reduciría el efecto de la interferencia de los analitos. Finalmente, el analista tiene la responsabilidad de tomar las decisiones, proporcionar datos de apoyo e interpretar los resultados de acuerdo a los principios científicos y a su juicio cualificado como se señala en el texto principal (párrafos 175-181).

Los requisitos de rendimiento del método para los métodos de confirmación basados en la cromatografía de gases / espectrometría de masas con baja resolución (CG-EM) y la cromatografía líquida / espectrometría de masas (CL-EM) listadas en la Tabla 2 del texto principal, han sido ampliadas para incluir situaciones en donde la intensidad iónica relativa pudiera ser menor al 10%. Bajo estas condiciones, es aceptable contar con un 50% de intensidad iónica relativa entre la norma y la muestra.

El cuadro 1 en este Apéndice lista el número de puntos de identificación (Psl) ganados por una combinación de la espectrometría de masa basada en técnicas analíticas y proporciona criterios necesarios y suficientes para el análisis de confirmación. Típicamente y para cumplir con un criterio de funcionamiento para los métodos regulatorios, se requiere de un mínimo de cuatro puntos de identificación. Por ello, la combinación de un ion precursor y dos iones producto proporcionarán los cuatro Psl requeridos, cuando se usan los instrumentos EM/EM de baja resolución en un método de confirmación. Los ejemplos de métodos de detección que no se basan en EM están listados en la Tabla 3 en el texto principal.

Independientemente de cuál sea la resolución del espectrómetro de masas, al menos debe medirse la tasa de un ion, para así eliminar la posibilidad de que surjan fragmentos de la misma masa de los compuestos isobáricos que presentan una estructura similar. Al usar espectrómetros de masa para su detección, también deberán determinarse los tiempos de retención, o mejor aún los tiempos de retención relativos, para evitar la posibilidad de identificaciones falsas.

Los espectrómetros de masa de alta resolución (EMAR) del tipo no magnético se están haciendo más asequibles en precio y se están usando más comúnmente. Si se usa este equipo, se sugiere que la confirmación de un compuesto, se base en la precisión de la masa más elevada y en el poder de resolución del espectrómetro de masas.

C8. VALIDACIÓN DE LOS MRM TOTALMENTE CARACTERIZADOS

La determinación de los parámetros en el párrafo 4, para todos los analitos y las matrices listadas en el ámbito de aplicación de un MRM permitirán que se haga una evaluación objetiva de que el método analítico es adecuado para los requerimientos, y puede ser usado en un programa regulatorio de control. En lo que respecta a los métodos de screening / Tamiz, la medición de los parámetros de funcionamiento de los analitos es obtenida a través de una serie de experimentos de validación en los que el $\geq 90\%$ de las mediciones tomadas para cada combinación de analito/ matriz / concentración de interés pudiera ser considerado aceptable para incluirlo en el método.

El párrafo 189 del texto principal recomienda el uso de material biológico acumulado, en la caracterización y validación de los métodos analíticos, donde sea posible, pero el costo de generar tal acumulación de material para la validación de cada analito en un MRM, pudiera ser prohibitivo. No obstante, donde es económicamente factible y posible de administrar distintos medicamentos veterinarios a un animal productor de alimento, pudiera generarse el material acumulado, para

algunos analitos seleccionados con gran cuidado y que sean representativos de las clases de medicamentos y/o grupos basados en su prevalencia de uso y potencial para provocar que los residuos excedan los LMRs establecidos. La concentración objetivo incurrida deberá ser muy cercana al LMR o a una concentración esperada.

Pueden usarse protocolos alternos en la validación de MRMs, adaptados como sea necesario para cada circunstancia individual.

Cuadro 1: Ejemplos del número de puntos de identificación (Psl) ganados por una variedad de técnicas de detección por espectrometría de masa y combinaciones de éstas (n= a una integral).

Técnica	Fuente de identificación	Número de puntos de identificación (Psl)
CG-EM (IE o CI)	n iones característicos	N
CG-EM (IE +CI)	2 (EI) + 2 (CI)	4
CG-IEEM o CG-EMIOQ (2 derivados)	2 (Derivada A) + 2 (Derivada B)	4
CL-EM	n iones característicos	N
CG-EM/EM ^c	1 ion precursor + 2 iones producto	4
CL/EM/EM ^d	1 ion precursor + 2 iones producto	4
CG-EM/EM	2 iones precursores, cada uno con 1 ion producto	5
CL-EM/EM	2 iones precursores, cada uno con 1 ion producto	5
CL-MS/EM/EM	1 precursor, 1 ion producto y 2 iones productos de 2 ^a generación	5.5
EMAR	N	2n
CG-EM y EMAR CL-EM	2 + 2	4
CG-EM y EMAR	2 + 1	4
CL-EMAR/EM y CG- EMAR/EM	1 ion precursor + 2 iones producto	6
^a Ionización de electrones (IE) ^b Ionización química (IQ) ^c Cromatografía de gases y espectrometría de masas en tándem (CG-EM/EM) ^d Cromatografía líquida y espectrometría de masas en tándem (CL-EM/EM)		